

Szerkesztői levél

A Magyar Kémiai Folyóirat jelen füzetében azon előadások anyagát tartalmazza, amelyek az Magyar Tudományos Akadémia 2004 tavaszi közgyűléséhez kapcsolódó osztályülésen hangzottak el, s amelyek anyagát a szerzők eljuttatták a szerkesztőséghez. A Kémiai Tudományok Osztálya hagyományosan az akadémiai közgyűlésekhez csatlakozó tematikus tudományos üléseket szervez, melyek a tudományos kutatás gyűjtőpontjában lévő területek aktuális eredményeit, fejlődési irányait tekintik át. A legutóbbi alkalommal a kémiai szerkezetkutatás napjainkban egyik legfontosabb, leggyorsabban fejlődő módszerét, a mágneses magrezonancia (NMR) spektroszkópiára esett a választás.

Az alább bemutatott program összeállításának vezérelve között legelső helyen az NMR spektroszkópia interdiszciplináris jellegének hangsúlyozása szerepelt. Az NMR-elméletben egyaránt nélkülözhetetlenek a kémiai, fizikai és matematikai ismeretek, elvek és törvények, az NMR-méréstechnikában alapvető jelentősége van a kísérleti fizikának, az NMR alkalmazási lehetőségei pedig szinte korlátlanok a természettudományok minden ágában. Ezért az ülés második részében azoknak a társtudományoknak egy-egy reprezentánsa tartott előadást, amelyekben az NMR-spektroszkópia mára a legnagyobb jelentőségre tett szert. A hallgatóság ekként áttekintést kaphatott az NMR-spektroszkópia kulcsszerepéről a fizikában, a biológiában és az orvostudományban. A program első részének előadásai a kémián belüli legfontosabb alkalmazási lehetőségeket mutatták be, sorra véve a kémiai analitika, a szénhidrát-kémia, a peptid-kémia és a fémorganikus, illetve komplexkémia területén elért legújabb kutatási eredményeket, miután az első előadás a mérés technika legkorszerűbb vívmányait foglalta össze. Az ülés két részének bevezető előadásai felvázolták az NMR-spektroszkópia nemzetközi és hazai történetének, fejlődésének és térhódításának legfontosabb mozzanatait.

Amidőn a Magyar Kémiai Folyóiratban közzé tesszük a közgyűlési ülés előadásait, a megújult lap azon egyik fontos célkitűzését valósítjuk meg, hogy időről-időre tematikus számokban tekintjük át a korszerű kémiai kutatások egy-egy nagy jelentőségű területét, s egyben eleget teszünk azon kötelezettségünknek is, hogy a Kémiai Tudományok Osztálya támogatásának ellenében a Kémiai Közlemények átvállalt feladatait teljesítsük.

*

Az MTA Kémiai Tudományok Osztálya 2004. évi közgyűléséhez kapcsolódó május 7.-i előadói ülésének programja: NMR SPEKTROSKÓPIA A TUDOMÁNYOK SZOLGÁLATÁBAN

Sohár Pál: Az NMR-sztori

Batta Gyula: Korszerű mérés technikák az NMR-ben

Tóth Gábor: Az NMR-mérések érzékenység-növelésének távlatai

Szilágyi László: NMR a szénhidrátkémiában

Perczel András: NMR a peptid- és fehérje-kutatásban

Szalontay Gábor: Anizotrop-fázisú NMR – mérés szilárd és részlegesen rendezett fázisban

Tompai Kálmán: A magyarországi NMR-kutatások kezdetei

Kriza György: NMR a fizikai kutatásokban

Závodszy Péter: NMR a biokémiában – alkalmazások az enzimkutatásban

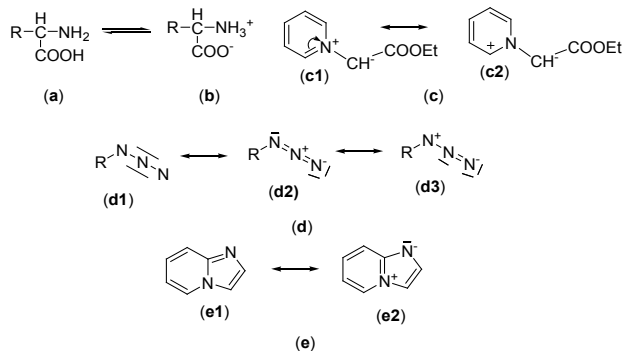
Martos János és Zaránd Pál: MRI: forradalmi változás az orvosi képi diagnosztikában

Heterociklusos ikerionok, új szintetikus lehetőségek

HAJÓS György

MTA Kémiai Kutatóközpont Kémiai Intézet, Pusztaszeri út 59-67., 1025 Budapest

Az „ikerionok” névvel olyan vegyületeket jelölünk, melyek két elkülönülő töltésű (pozitív és negatív) szerkezeti részt tartalmaznak, szerkezeti képletük ezért szükségszerűen pozitív és negatív töltést tartalmaz. A legszigorúbb értelemben a lokalizált töltéseket tartalmazó vegyületek tartoznak ebbe a csoportba, ilyenek pl. az aminosavak (1. ábra, **a**) ikerionos tautomer formái (**b**). Érdekes megjegyezni, hogy a magyar „ikerion” szóhasználat sajátos, és alapvetően eltér az angol és német szakszövegekben alkalmazott „zwitter” kifejezéstől. Míg ez utóbbi a különbözőséget (azaz a két töltés ellentétét) fejezi ki, a magyar „iker” szó az azonosságot hangsúlyozza (vagyis azt a tényt, hogy mindkét külön helyen töltés helyezkedik el). Tágabb értelemben ikerion jelzőt használunk olyan vegyület esetében is, mely az egyik vagy mindkét töltést delokalizált formában tartalmazza, de továbbra is fennáll az a körülmény, hogy kizárólag két elkülönülő töltést tartalmazó szerkezettel ábrázolható. Így pl. a **c** származék a **c1** és **c2** határszerkezetekkel írható le. Mind az **b**, mind a **c** típusú ikerionok jellegzetes sajátossága a magas dipólusmomentum, és reakciókészségüket is alapvetően meghatározza az erősen polarizált jelleg.



1. ábra. Az ikerionos szerkezetek összehasonlítása izolált és konjugált töltések esetében

Az értelmezést tovább tágítva semleges szerkezettel felrajzolható szerkezetű vegyületek esetében is beszélhetünk ikerionos határszerkezetekről. Így pl. a közismerten apoláris oldószerekben jól oldódó szerves azidok vegyértékkötésekkel való semleges ábrázolása igen nehéz (pl. **d1**), azonban ikerionos határszerkezetekkel (**d2** és **d3**) ez könnyen megtehető. S bár valóban ismert, hogy azidok dipoláris reagensként is részt vehetnek reakciókban (pl. 1,3-dipoláris ciklizációkban), nyilvánvalóan e vegyületek dipoláris jellege kisebb mértékű, ezért ezekre és hasonló származékokra az „ikerion” kifejezést már nem használjuk. Különösen kézenfekvő ez olyan vegyületeknél, melyek semleges szerkezeti képlete könnyen felrajzolható, s csupán a

reakciókészség értelmezése céljából ábrázolhatjuk valamely ikerionos határszerkezetével. Így pl. közismert, hogy az imidazo[1,2-a]piridin (**e**) az 1-es helyzetű nitrogénjén könnyen alkilezhető, és ez a reakciókészség nagyon is kézenfekvő, ha a semleges **e1** szerkezet mellett figyelembe vesszük az **e2** ikerionos határszerkezet hozzájárulását.

- nukleofil centrum: alkilezés, azokapcsolás, stb.
- elektrofil centrum: anionok addíciója
- dipoláris jelleg: cikloaddíció

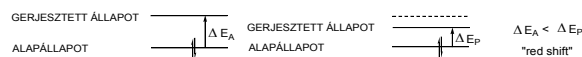
2. ábra. Az ikerionos vegyületek fő reakciókészsége

Az itt tárgyalt ikerionok reakciókészségét tekintve három átalakítási lehetőséget kell kiemelnünk (2. ábra). Az ikerion negatív töltésű (nukleofil jellegű) centruma elektrofil reagensekkel könnyen reakcióba lép, pl. alkilezhető vagy azokapcsolási reakcióba vihető. Az ikerion pozitív töltésű centruma ugyanakkor sok esetben nukleofilek addíciójára képes. A harmadik reakciókészséget az ikerion két különböző töltésének együttes jelenléte határozza meg: dipoláris cikloaddícióban vehet részt megfelelő dipolarofil reagenssel.

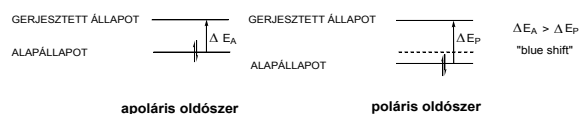
Az ikerionos jelleg könnyen kimutatható ultraibolya spektroszkópia segítségével, ugyanis ezek a származékok fordított oldószerhatást, un. „inverz szolvatokrómiát” mutatnak¹. A jelenségre a 3. ábra ad magyarázatot.

A jelenség megértéséhez ismerni kell azt az általános kísérleti tényt – s ezt kvantumkémiai számítások is alátámasztják – hogy a semleges szerves molekulák π -elektronrendszerénél az első gerjesztett állapot polaritása az alapállapothoz viszonyítva megnő. Minthogy egy poláris állapot energiája poláris oldószerben relatíve csökken, a gerjesztés során végbemenő polaritásváltozás azzal jár együtt, hogy a gerjesztési energia a poláris oldószerben kisebb lesz. (Ehhez természetesen feltételeztük azt, hogy az oldószer polaritásváltozása a viszonylag apoláris állapotra nézve elhanyagolható.) Tehát $\Delta E_A > \Delta E_P$, azaz un. vörös eltolódást („red shift”) észlelünk, ha az oldószer polaritását növeljük (3. ábra).

Általános eset



Ikerionok esete



3. ábra. A gerjesztési energia változása apoláris és poláris oldószerekben

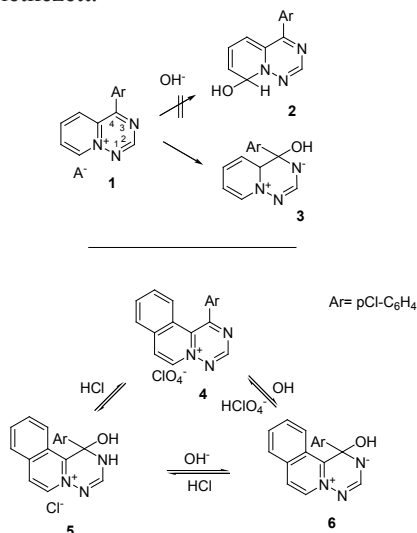
A fentiekből következik azonban, hogy erősen poláris alapállapotú π -elektronrendszerrel rendelkező molekulák (pl. ikerionok) esetében ellenkező effektus lép fel. Itt ugyanis a poláris alapállapot gerjesztésekor egy apolárisabb gerjesztett állapot jön létre, az oldószer polaritásának növelése az alapállapot energiáját csökkenti, így ezzel együtt a gerjesztési energia megnő, azaz ΔE_A , ΔE_p . Ez kék eltolódást („blue shift”) jelent, ami tehát az ikerionos molekula erősen poláris tulajdonságával hozható összefüggésbe.

Az inverz szolvatokrómia jelenségének értékelésénél két szempontot kell feltétlenül figyelembe vennünk: a) meg kell győződnünk, hogy valóban $\pi \rightarrow \pi^*$ átmenetet vizsgálunk; b) az ikerionos jellegre csak akkor következtethetünk, ha a „kék eltolódás” szignifikáns, azaz legalább 10-15 nm.

Jelen közleményben arra vállalkoztam, hogy a heterociklusos kémiában gyakran előforduló, és szintetikus szempontból fontos, az 1. ábrán feltüntetett **c** szerkezethez hasonló (tehát a töltések delokalizációját is lehetővé tevő szerkezetű) ikerionokkal foglalkozzam, és ezekkel kapcsolatos eredményeinkről öt különböző gyűrűváz esetében számoljak be.

A. Ikerionok képződése kondenzált aziniumsókából

Kondenzált [1,2,4]triaziniumsókkal végzett kutatásaink során jól járható szintézisutat dolgoztunk ki 4-arilpirido[2,1-f][1,2,4]triaziniumsók (**1**) előállítására². Váratlan eredményt kaptunk, amikor az (**1**) heteroaromás só t nukleofil reagenssel (esetünkben hidroxid ionnal) reagáltattuk. Számos rokon gyűrűváz esetében szerzett tapasztalatunk alapján a hidfő-nitrogénatom melletti szénatomon vártuk az addíciós reakció lezajlását (**2** keletkezését), így a **2** képződése tűnt valószínűnek. Ezzel szemben az OH csoport addíciója a 4-es szénatomon, azaz a triazingyűrűben ment végbe, és a **3** ikerion keletkezett.



4. ábra.

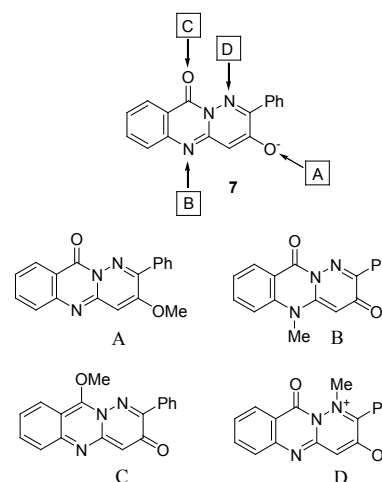
Hasonló jelenséget tapasztaltunk **1** benzolójga: az [1,2,4]triazino[6,1-a]izokinoliniumsó (**4**) esetében is, sőt – feltehetően a háromgyűrűs származékban jelenlevő további benzolgyűrű stabilizáló hatásának köszönhetően – egy érdekes hármass egyensúlyt is sikerült kimutatnunk.

Úgy találtuk, hogy a **4** só nátrium-hidroxiddal a **6** ikeriont szolgáltatja, ugyanakkor már vizes sav (pl. híg sósav) jelenlétében is átalakul, és az **5** kovalens hidrát keletkezik. E kovalens hidrát lúg hatására deprotonálódik, és a **6** ikeriont eredményezi. Mind a hidrát sóból (**5**), mind az ikerionból (**6**) visszajuthatunk a **4** aromás sóhoz tömény savas (pl. perklórsavas) kezeléssel.

B. Ikerion képződése alkilezéssel

A előző példánál az ikerion pozitív töltésű heteroaromás gyűrűvázon végbemenő nukleofil addícióval jött létre. A most tárgyalandó eredmény azt példázza, hogy elektrofil addíció is vezethet ikerionok kialakulásához.

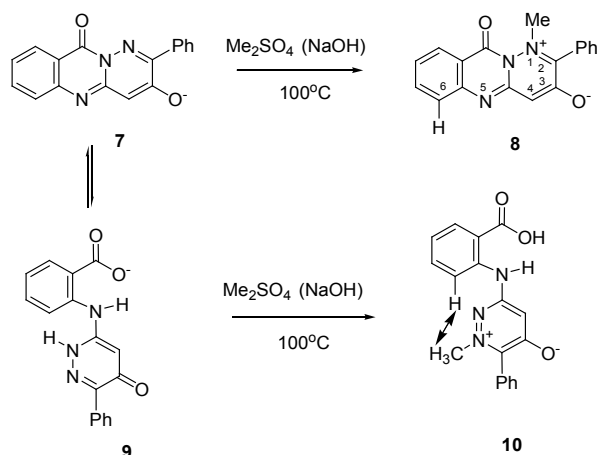
Kondenzált piridazinrendszerekkel végzett kutatásaink során eljárást dolgoztunk ki a tricikusos **7** anion előállítására^{3,4}. Különös érdeklődéssel vizsgáltuk e származék alkilezhetőségét, hiszen az 5. ábrán feltüntetett nyilaknak megfelelően az alkilezési reakció négy helyen is végbemehet, így az A, B, C és D termékek keletkezésével egyaránt számolnunk kellett.



5. ábra. A tricikusos **7** anion négyféle alkilezési lehetőségének összehasonlítása

A dimetil-szulfáttal végrehajtott átalakítás során kristályos terméket nyertünk, melynek inverz szolvatokrómiáját észleltük, továbbá NMR NOE kísérlettel kimutattuk, hogy a belépett metilcsoport a fenil szubsztituens közelében helyezkedik el. Ez a megfigyelés összhangban lett volna **8** keletkezésével. Részletesebb NMR vizsgálatok ugyanakkor egy másik kölcsönhatást is kimutattak, mely alapján kétségbe kellett vonnunk a **8** szerkezet képződését: kitűnt ugyanis, hogy a metil csoport besugárzása a H-6 atom jelenléténél is NOE effektust eredményez.

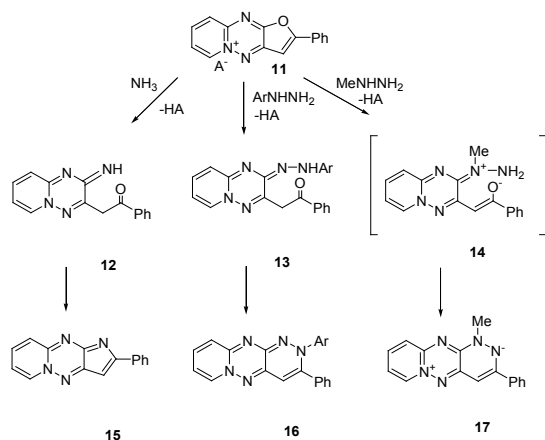
Alaposabb szerkezetvizsgálat alapján kitűnt, hogy az alkilezési reakció nem közvetlenül a **7** tricikusos molekulán zajlott le, hanem először az alkalmazott vizes lúgos körülmények miatt hidrolitikus gyűrűfelnyílás ment végbe, a **9** szubsztituált anilinopiridazinon keletkezett, és ennek az intermedierek a metilezése szolgáltatva a **10** ikeriont. Az ábrán feltüntetett nyíl meggyőzően mutatja, hogy a **8** szerkezetenél nem értelmezhető NOE kölcsönhatás a **10** származék esetében kézenfekvő.



6. ábra.

C. Gyűrűtranszformációval képződő ikerionos piridazin származékok és átalakításai

A Graz-i Egyetemen fennálló együttműködésünk keretében eljárást dolgoztunk ki a **11** furo[2,3-e]pirido[1,2-b][1,2,4]triazinium só szintézisére, melynek nukleofil reagensek iránti reakciókészségét tanulmányoztuk⁵⁻⁸. Kimutattuk, hogy minden esetben a triazin gyűrűnek az oxigén atommal szomszédos szénatomján történik a nukleofil támadása.

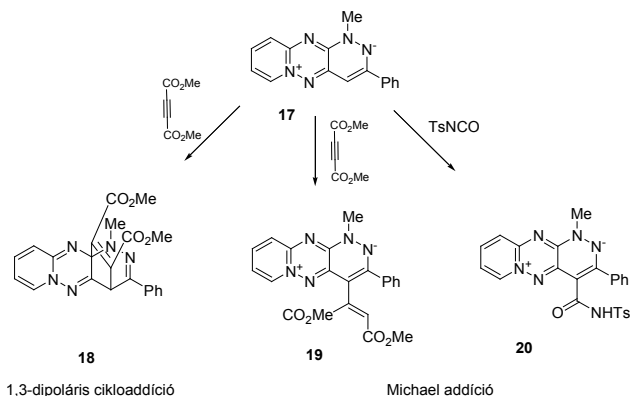


7. ábra.

Érdekes összehasonlítást tehetünk, amikor a **11** sót ammóniával, fenilhidrazinnal, valamint metilhidrazinnal reagáltattuk. Ammónia esetében gyűrűfelnyílással a **12** addíciós vegyület képződött, mely savban melegítve ismét ciklizációs reakcióban vett részt, és a háromgyűrűs pirrol-kondenzált származékhoz (**15**) vezetett. Szintén gyűrűfelnyílás történt a fenilhidrazin reagens esetében is, hasonló módon addíciós vegyület (**13**) jött létre, melynek savas kezelése ez esetben egy hattagú (azaz piridazin) gyűrű (**16**) kialakulását eredményezte. A harmadik reagens: metilhidrazin esete eltért az előző kettőtől: itt is gyűrűfelnyílás játszódott le, de a **14** intermediert izolálni nem tudtuk, mert spontán gyűrűzáródással a **17** ikerionos származék keletkezett. A fenil- és metilhidrazinnal végbement eltérő átalakulás nyilvánvaló oka, hogy míg a

fenilhidrazin esetében a terminális nitrogén atom a nukleofil centrum, addig a metilhidrazin esetében a metilcsoportot hordozó nitrogénatom nukleofil jellege a nagyobb, így ez kapcsolódik a triazingyűrű szénatomjához.

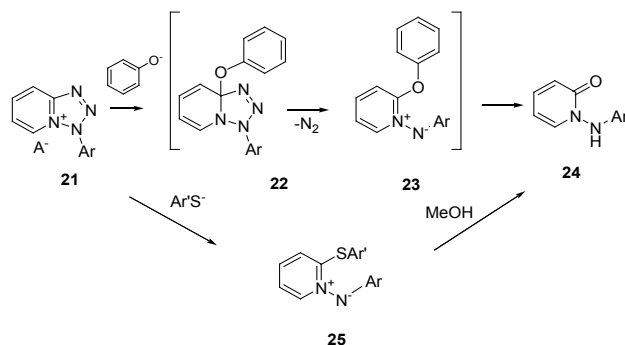
Az új ikerion (**17**) érdekes továbbalakításokra nyújtott lehetőséget. Így például acetilén-dikarbonsavészterrel kétféle termék képződését észleltük: egyrészt 1,3-dipoláris cikloaddíció ment végbe és a **18** cikloaddukt keletkezett, másrészt izolálni tudtuk a **19** Michael-adduktot is. Kizárólag Michael-addíció játszódott le ugyanakkor tozilizocianát reagenssel, és a **20** addíciós vegyületet nyertük.⁹



8. ábra.

D. Új kéntartalmú piridíniumvázú ikerionok képződése és ezek átrendeződése

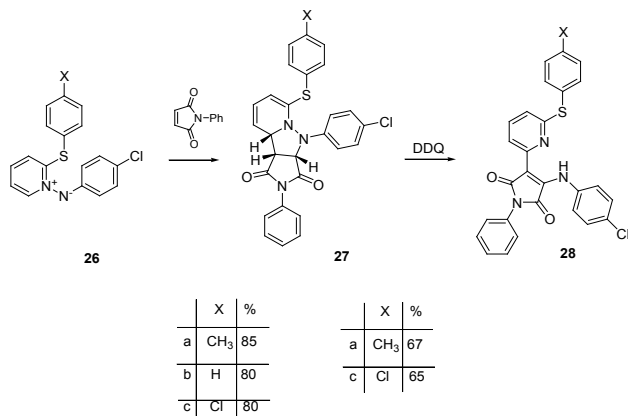
Korábban kiterjedt vizsgálatokat végeztünk hídfo nitrogént tartalmazó azolo-aziniumsók előállításával és gyűrűfelnyílásával kapcsolatban. Megállapítottuk, hogy néhány reagens (pl. alkoxid vagy fenolát ion) esetében a tetrazolgyűrű felnyílik és nitrogén-elimináció megy végbe¹⁰. Így pl. a **21** tetrazolopiridíniumsó fenolátok hatására első lépésben addíciós reakcióban vesz részt (**22** keletkezik), ezt követően nitrogén-elimináció megy végbe és **23** intermediér jön létre, legvégül pedig a **24** N-anilino-piridon keletkezik stabilis kristályos vegyületként.



9. ábra.

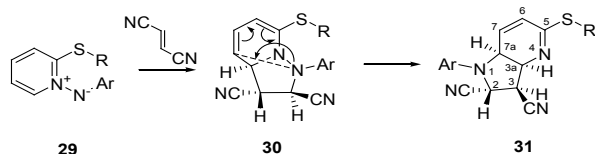
Legújabb kísérleteinkkel azt igazoltuk^{11,12}, hogy bár tiofenolát reagens hatására hasonló átalakulás indul meg, azonban a nitrogén-eliminációt követően létrejövő ikerion (**25**) stabilis formában kiválik a reakcióelegyből, és itt a reakciósor leáll. Protikus oldószer hatására ez esetben is van mód az ariltio

csoport eltávolítására, így pl. metanolban megtörténik a detioarileződés, és a jelenlevő víz részvételével a **24** piridon nyerhető.



10. ábra.

Az így nyert, vörös kristályos ikerionok kitűnő kiinduló vegyületnek bizonyultak cikloaddíciókhoz. Így pl. a **26** ikerion N-fenilmaleinimiddel 1,3-dipoláris cikloaddícióban vett részt, és a **27** adduktot eredményezte. Érdekes átalakulást figyeltünk meg e termék oxidációja során: DDQ hatására oxidatív gyűrűfelynyílás ment végbe, és a **28** pirroldion keletkezett.



11. ábra.

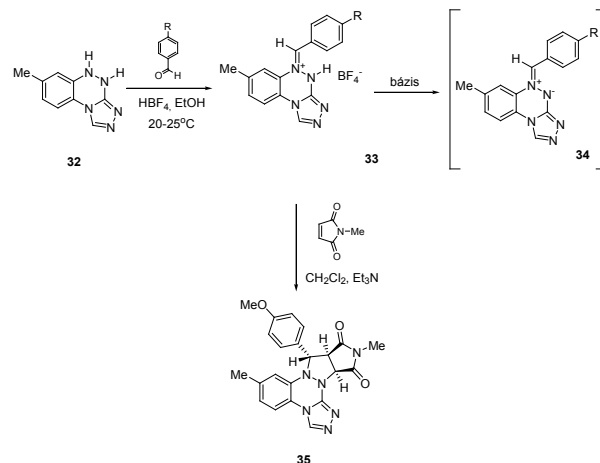
A kéntartalmú ikerionok (**29**) váratlan viselkedését észleltük fumaronitril reagens esetében. Kimutattuk, hogy a reakcióban – egyéb dipolarofilekhez hasonlóan – itt is 1,3-cikloaddukt (**30**) képződik első lépésben, azonban ez a vegyület csak intermedierként jön létre, és már szobahőmérsékleten spontán átrendeződés történik: az N-N kötés felszakad, és a **31** gyűrűtranszformációs termék keletkezik. A reakció mechanizmusa feltételezhetően 1,5-szigmatróp átrendeződés.

E. Új triazinium ikerionok és cikloaddíciós átalakulásuk

A Ljubljana-i Egyetemmel végzett legújabb kooperációnk keretében^{13,14} gyűrűs hidrazinok reakciókészségét vizsgáltuk. Minthogy korábban behatóan foglalkoztunk kondenzált [1,2,4]triazinok szintézisével, jól járható reakcióút állt rendelkezésünkre 4,5-dihidro-[1,2,4]triazolo[3,4-c]benzo-[1,2,4]triazin (**32**) előállítására¹⁵. Kimutattuk hogy **32** és aromás aldehidek sav jelenlétében könnyen reakcióba lépnek, és a **33** azometinium sók keletkeznek. A **33** só különösen azért tűnt érdekes terméknek, mivel deprotonálódással ikerionná (**34**) alakítható.

Bár a várt ikerionok képződését valóban megfigyeltük, azt tapasztaltuk, hogy viszonylag bomlékonyak, nehezen

tárolhatók, ezért *in situ* előállításuk és ily módon történő továbbalakításuk tűnt célszerűnek. Valóban azt észleltük, hogy az ikeriont eredményező deprotonálás diklórmétánban trietil-aminnal könnyen végbemegy, és dipolarofil (pl. N-metilmaleinimid) jelenlétében a várt cikloaddíció megy végbe (azaz **35** keletkezik).



12. ábra.

Összefoglalás és kitekintés

A jelen közlemény olyan eredményeinket foglalja össze, melyek során öt különböző reakciótípussal (nukleofil addícióval, elektrofil addícióval, gyűrűtranszformációval, gyűrűfelynyílással és deprotonálással) jutottunk ikerionos származékokhoz. A kapott termékeknél több esetben volt módunk az ikerionos vegyületek reakciókészségével foglalkozni és megállapíthattuk, hogy kitűnő kiindulási vegyületeknek mutatkoznak elsősorban cikloaddíciós reakciókhoz, ezáltal policiklusos új gyűrűvázak felé nyitják meg az utat.

A többszörösen kondenzált heterociklusok a biológiai felhasználás irányába is felhívták figyelmünket. Kooperációban végzett kutatásaink az utóbbi időben arra az eredményre vezettek, hogy e vegyülettípusok számos esetben kitűnő interkalálószer¹⁶ lehetnek, továbbá jelentősen gátolhatják a „multidrug-rezisztenciát”¹⁷, mely utóbbi tulajdonság a rákterápia területén kiemelt fontosságú lehet.

Kutatásainkat a piridin- és triazinvázú ikerionok területén jelenleg is folytatjuk, s fokozottabban törekszünk az új policiklusok farmakológiai sajátságainak feltárására.

Köszönetnyilvánítás

Köszönetemet fejezem ki minden munkatársamnak, aki az itt tárgyalt eredmények elérésében részt vett, nevük a hivatkozások társszerzői között található. A kutatások anyagi támogatásáért köszönet illeti a következő projekteket: OTKA T 35176, 1/047 NKFP MediChem, EU fund QLK2-CT-2002-90436.

Hivatkozások

1. Reichardt Ch.; Harbusch-Gornert E. *Liebigs Ann. Chem.* **1983**, 721.
2. Messmer A.; Bátori S.; Hajós Gy.; Benkó P.; Pallos L.; Petőcz, L. *Trends in Medicinal Chemistry* 88; H. van der Goot, G. Domány, L. Pallos, H. Timmerman., Ed.; Elsevier: Amsterdam, **1989**; pp. 453-466.
3. Csányi D.; Hajós Gy.; Riedl Zs.; Kos C.; Kappe T. *Heterocycl. Comm.* **2000**, 6, 147-152.
4. Csányi D.; Hajós Gy.; Timári G.; Riedl Zs.; Kotschy A.; Kappe T.; Párkányi L.; Egyed O.; Kajtár-Peredy M.; Holly S. *Eur. J. Org. Chem.* **2002**, 133-138.
5. Juhász-Riedl Zs.; Hajós Gy.; Kollenz G.; Messmer A.; *Chem. Ber.* **1989**, 122, 1935-38.
6. Juhász-Riedl Zs.; Hajós Gy.; Gács-Baitz E.; Kollenz G.; Messmer A. *Chem. Ber.* **1990**, 123, 1415-19.
7. Riedl Zs.; Hajós Gy.; Kollenz G.; Sterk H.; Messmer A.; *Monatshefte*, **1992**, 123, 1181-91.
8. Riedl Zs.; Hajós Gy.; Kollenz G.; Messmer A.; *Chem. Ber.* **1994**, 127, 1799-1802.
9. Riedl Zs.; Hajós Gy.; Messmer A.; Rockenbauer A.; Korecz L.; Kollenz G.; Fabian W.; Peters K.; Peters E. M. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1997**, 757.
10. Messmer A.; Gelléri A.; Hajós Gy. *Tetrahedron*, **1986**, 42, 4827-36.
11. Messmer A.; Kövér P.; Riedl Zs.; Gömöry Á.; Hajós Gy. *Tetrahedron* **2002**, 58, 3613-3618.
12. Riedl Zs.; Kövér P.; Soós T.; Hajós Gy.; Egyed O.; Fábián L.; Messmer A. *J. Org. Chem.*, 68, 5652-59 (**2003**)
13. Riedl Zs.; Gróf Cs.; Hegedűs G.; Hajós Gy.; Stanovnik B. *XXth European Colloquium on Heterocyclic Chemistry*, **2002**, abstract of lectures pp. 103.
14. Gróf Cs.; Hegedűs G.; Riedl Zs.; Hajós Gy.; Stanovnik B. *9th Blue Danube Symposium on Heterocyclic Chemistry*, **2002**, abstract of lectures p. 114.
15. Messmer A.; Hajós Gy.; Benkó P.; Pallos L. *J. Org. Chem.*, 44, 1823 - 25 (1979)
16. Hajós Gy.; Riedl Zs.; Molnár J.; Szabó D. *Drugs of the Future*, **2000**, 25, 47-62.
17. Sharples D.; Molnár J.; Szabó D.; Hajós Gy.; Riedl Zs.; Csányi D. *Arch. Pharm.*, **2001**, 331, 269-74.

Kalix[4]arének és a Mitsunobu reakció. A kalixarén alapú receptorok szintézisének új távlatai

BITTER István,^{a*} GRÜN Alajos,^a CSOKAI Viktor,^a BALÁZS Barbara^b és TÓTH Gábor^{b,c}

^aSzerves Kémiai Technológiai Tanszék, Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, H-1521 Budapest.

^bMűszaki Analitikai Kutatócsoport MTA-BMGE H-1521 Budapest

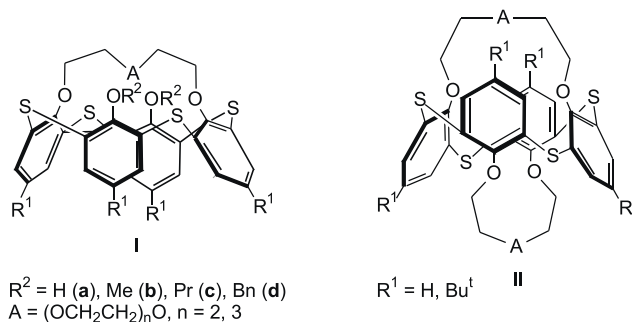
^cIVAX Gyógyszerkutató Kft. H-1325 Budapest

1. Bevezetés

A kalixarén (CA) származékok nagy száma részben az utóbbi tíz évben kifejlesztett regio- és konformáció-szelektív reakcióknak tulajdonítható.^{1,2} A kalix[4]arén részleges *O*-alkilezése és acilezése, a fenol egységek aromás gyűrűjének nitrálása, halogénezése, formilezése fontos szintetikus módszerek, melyek lehetőséget kínálnak a molekulák széles választékának előállítására. A mindössze 1997 óta ismert tiakalixarének (TCA) kémiájában eddig még nem írtak le hasonlóan hatékony regioszelektív reakciókat. A gyenge bázisok (K_2CO_3 , Et_3N) jelenlétében történő *O*-alkilezési- és acilezési reakciók itt számottevő szelektivitás nélkül játszódhatnak le, ami a kalix[4]arénhez képest 15%-al nagyobb gyűrűátmérőre és a fenolos hidroxil csoportok savasságában mutatókozó lényegesen kisebb különbségekre vezethető vissza.³ Következésképpen a tiakalix[4]arén tetraalkilezése különböző bázisokkal⁴⁻⁷ könnyen megvalósítható, de a termék sztereokémiája nagymértékben függ az alkalmazott bázistól és a tiakalix váz *para* helyzetű szubsztituenseitől (*tert*-Bu, H).⁷ Az 1,3-helyzetű disztális diéterekhez és diészterekhez viszont már nem lehet eljutni a kalixarének körében jól bevált módszerekkel. Eddig csak kevés 1,3-dialkoxi (metoxi, propoxi és etoxikarbonil-metoxi)⁸ és néhány részlegesen *O*-acilezett származékot írtak le, kis termeléssel és szelektivitással.⁹⁻¹²

Az utóbbi időben a tiakalix[4]korona éterek szintézisét tanulmányozva felismertük, hogy a TCA hagyományos ciklizációja (oligoetilén-glikol származékok / K_2CO_3 bázis) a kalix[4]arénektől eltérően nem áll meg **Ia** monokorona fokon, hanem csak a **II** bisz(korona-étereket) lehet kinyerni¹³ (1. ábra). A monokorona éterek előállítása céljából ezért szükség volt a ciklizáció előtt a két disztális hidroxil csoport védésére. Sajnos kísérleteink eredménytelenek voltak, s így **Id**-t, majd ebből **Ia**-t ezen az úton nem sikerült előállítani. Helyette **Ib,c** monokoronákat¹⁴ készítettük el és megállapítottuk, hogy közülük a korona-6 származékok-csakúgy, mint a megfelelő **II** biszkorona éterek ($A = (OCH_2CH_2)_nO$, kiváló szelektivitással komplexálják a CS^+ iont.

Minthogy a vegyületcsaládban rejlő kémiai lehetőségek kiaknázására csak **Ia** alkalmas, szintézisét mindenképpen meg kellett oldani. Ezért is, és a hagyományos, bázisokkal kiváltott alkilezések hátrányainak kiküszöbölésére új, általános megoldást kerestünk tiakalix[4]arének szelektív *O*-alkilezésére.



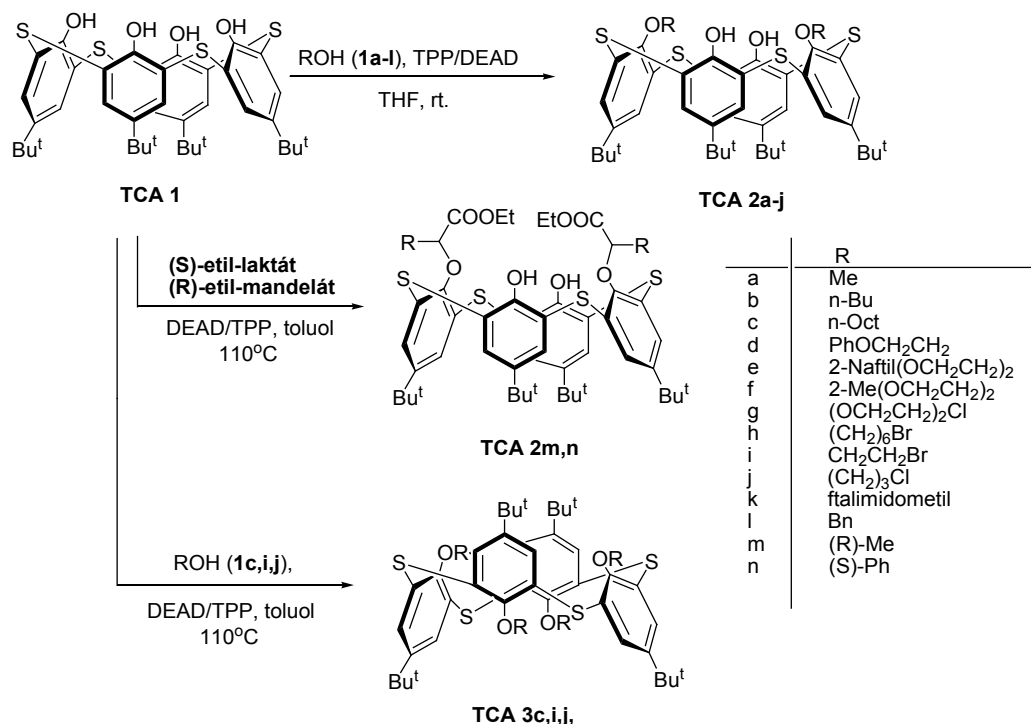
1. ábra. Tiakalix[4]korona éterek

Fenolok Mitsunobu alkilezését alkoholokkal (foszfin-azodikarboxilát) az irodalom számos példával dokumentálja.^{15,16} Ez a rendkívül hatékony reakció, amit a kalixarénekre is csak két esetben alkalmaztak (glikozil kalixarének,¹⁷ alkilezés benzil- vagy allilalkohollal¹⁸), a tiakalixarének esetében példanélküli. Eredményeink bizonyítják, hogy a teljes molekulakörben is kiválóan használható, gyakran az egyedüli megoldást kínáló módszer.

2. A Mitsunobu reakció felhasználása *p-tert*-butil-tiakalix[4]arén 1,3-dialkilezésére¹⁹

A *p-tert*-butil-tiakalix[4]arént (**TCA1**) THF-ban trifenil-foszfin (TPP) és dietil-azodikarboxilát (DEAD) reagensek jelenlétében számos alkohollal reagáltattuk (molarány: **TCA1**/TPP-DEAD/ROH = 1:3:10). A primer alkoholok szobahőmérsékleten szelektíven adták **TCA2a-l** disztális diétereket (2. ábra). A dialkilezés szekunder alkoholokkal ((S)-etil-laktát, (R)-etil-mandelát) enyhe körülmények között eredménytelen volt, viszont toluolban forráshőmérsékleten jó termeléssel sikerült előállítani **TCA2m,n** királis diésztereket. Az S_N2 mechanizmusú reakciót az optikailag aktív alkoholok aszimmetria centrumának inverziója kíséri. A **TCA2** diéterek konformációja az NMR mérések alapján kónikus, ezt a szerkezetet a szomszédos OH csoportok hidrogén kötésekkel stabilizálják.^{8,14} Néhány esetben a TPP/DEAD reagens molarányát megduplázva **TCA3c, i** és **j** tetraéterekhez jutottunk. Ezek a molekulák a 1H NMR adatok alapján már 1,3-alternáló konformációt vesznek fel, ugyanúgy, mint a K_2CO_3 jelenlétében végzett alkilezések termékei.²⁰

*Főszerző. Tel.: 36-1-463-1379; fax: 36-1-463-3648; e-mail: ibitter@mail.bme.hu



2. ábra. A *p*-*tert*-butil-tiacalix[4]arén reakciója alkoholokkal

3. Kalixarének reakciója oligoetilén-glikolokkal²¹

Felmerült a kérdés, mi történik, ha a Mitsunobu reakciót diolokkal végezzük, más szóval elérhető-e a kalixarének szelektív, 1,3-helyzetű gyűrűzárása oligoetilén-glikolokkal, ami egy új perspektívát nyitna a kalix[4]korona vegyületek szintézisében. A szakirodalomban ez a megközelítés példanélküli, még difenolok Mitsunobu ciklizációját is csupán 1,1'-bi-2-naftol 1,3-diolokkal végzett monoalkilezése kapcsán, mint mellékreakciót említik.²² A reakció kimenetele, azaz, hogy intra-, vagy intermolekuláris folyamat, esetleg polimerizáció fog lejátszódni, nem volt előre megjósolható, mivel itt a hagyományos koronaéter szintézisekben jól kihasználható fémion templát nem lép fel, így nincs, ami segítse a koronaéter gyűrű kialakulását.

3.1.1. Ciklizáció *p*-*tert*-butiltiacalix[4]arénnel

A reakció toluolban, 25°C-on TCA1/glikol/(TPP/DEAD) = 1:1,5:3 molarányok mellett már 0,5 óra alatt lejátszódott és TCA4a-f korona vegyületek képződtek általában kiváló regio szelektivitással és változó termeléssel (30-50%, méretnöveléskor a termelések 60-70%-ra emelkedtek), (3. ábra). A monokorona a disztális áthidalásnak megfelelően C_{2v} szimmetriájú kónikus konformációt vesznek fel. Említésre méltó, hogy a TCA4c,d aza-korona-5 és a TCA4e benzokorona-6 éterek nem állíthatók elő másképpen.

Trietilén-glikollal ugyanilyen körülmények között a cikloalkilezési kísérlet nem volt szelektív, mert a TCA4a monokorona mellett kis mennyiségben TCA6a biszkorona

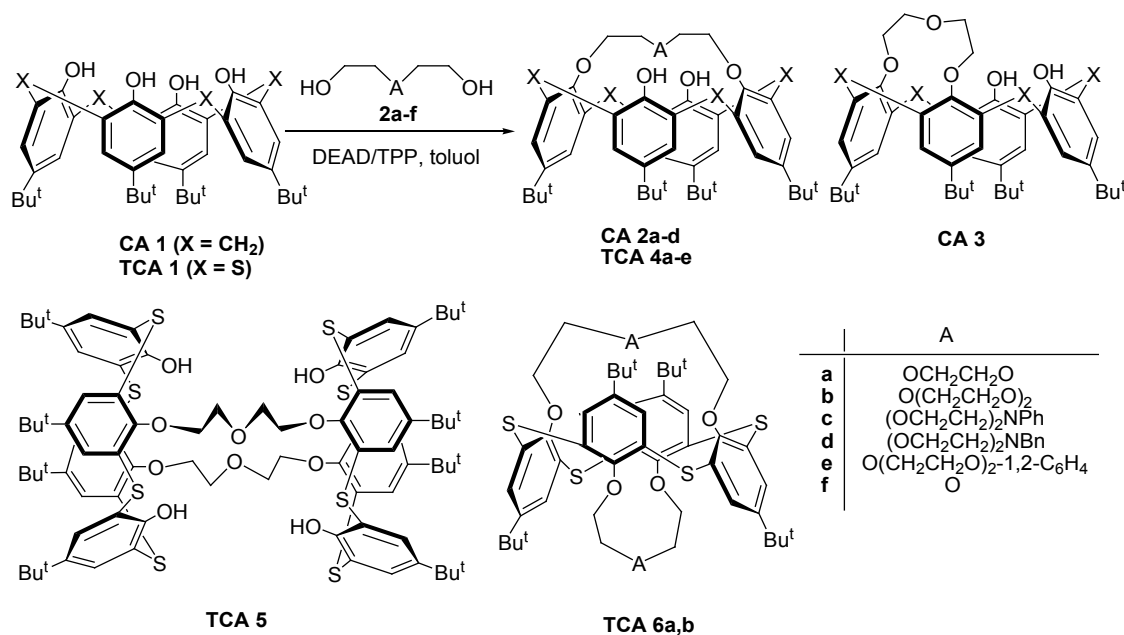
is megjelent, melynek aránya a reaktánsok feleslegének növelésével és a reakcióelegy melegítésével nőtt. Biszkorona éterek hosszabb láncú glikolokkal 25°C-on nem képződnek. Ezeket (TCA6a, b) előnyös két lépésben, TCA4a, b monokorona ismételt ciklizációjával előállítani.

A tiacalixarén alkilezési reakciója Mitsunobu reakcióban dietilén-glikollal érdekes terméket, két tiacalix váz összekapcsolódásával TCA5 dimert adott (40%), amely ebben a molekulakörben a multikavitásos receptorok első képviselője. A dimer szerkezetre már a ¹H NMR-ben mutató anomáliák is utaltak, de csak a pozitív FAB-MS szolgáltatott bizonyítékot (*m/z*: 1619 [M+K]⁺).

3.1.2. Ciklizáció *p*-*tert*-butiltiacalix[4]arénnel

A *p*-*tert*-butiltiacalix[4]arén analóg reakciói glikolokkal a tiacalixarén esetében tapasztaltakhoz hasonló, illetve attól eltérő eredményeket hozott. Közepes lánc hosszúságú 2a-d glikolokkal (tri- és tetraetilén-glikol és aza-analagonjai) itt is 1,3-intramolekuláris kondenzáció játszódott le, és CA2a-d koronavegyületek keletkeztek (3. ábra).

Kalix(bisz)korona képződését itt egyetlen esetben sem tapasztaltuk, amit a harmadik és negyedik OH csoportok gyenge savassága magyaráz ((TCA pK_{a3,4}=11,6-12, CA pK_{a3,4}<13).³ A 2e pentaetilén-glikol analogonnal – a CA disztális OH csoportjainak kisebb távolsága miatt – már egyáltalán nem történt gyűrűzárás. Ugyanakkor két proximális OH csoport közötti távolság megfelel a dietilén-glikol (2f) lánc hosszának, és így ezzel CA3 1,2-kalixkorona-3 gyűrű ki tud alakulni.²³



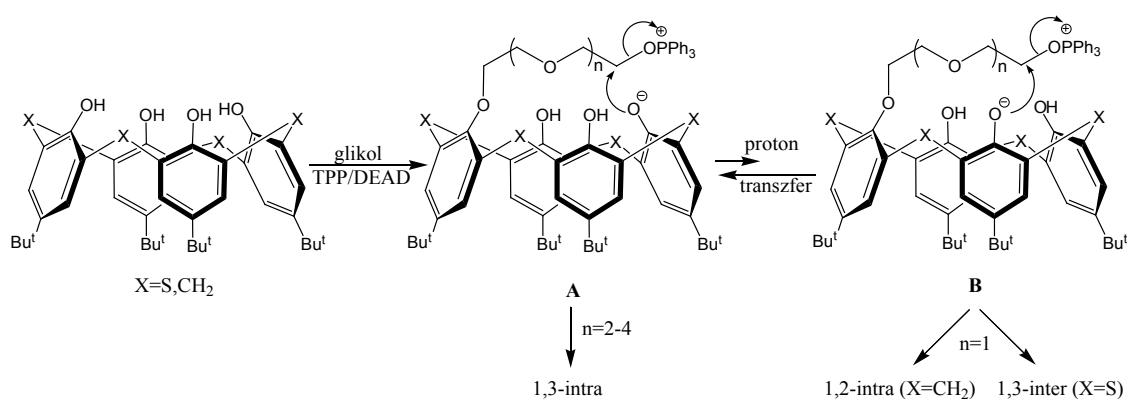
3. ábra. Kalixarének reakciói oligoetilén-glikolokkal

A ciklizáció mechanizmusa

Feltételezésünk szerint a primer alkilezést követően dominánsan az **A** ikerionos intermedier alakul ki, mert ennek fenolát anionja a legstabilisabb (a két szomszédos OH hidrogén kötésekkel stabilizálja). Ez protonátmenet révén – ha kis mértékben is – egyensúlyban lehet **B** intermedierrel. Amennyiben az **A** intermedierben a lánc terminális elektrofil csoportja eléri a fenolátot, akkor megtörténik a gyűrűzárás (X = S, CH₂; n = 2-4). Az 1,3-intramolekuláris reakció preferenciáját a disztális fenolos OH csoportok biztosíthatják, amelyek a lánc éteres oxigén atomjait is érintő kétágú hidrogén kötésekkel tudják a láncot

a kalixarén váz peremének a környezetében tartani. Rövid, de a proximális fenolátot elérő lánc esetében (X = CH₂, n = 1) még mindig az intramolekuláris reakció preferált a **B** formán keresztül. Ha ez a feltétel sem teljesül (X = S), akkor az **A** forma intermolekuláris irányba kitérve dimerként stabilizálódik (4. ábra).

A fenti elképzelést alátámasztani látszik az egyszerű alkoholokkal végzett reakciókhoz képest tapasztalt reakciósebesség növekedés, amely minden bizonnyal az itt kialakuló reaktív ikerionos intermediernek és ennek ciklizációja során fellépő nagy entrópia nyereségnek tulajdonítható.

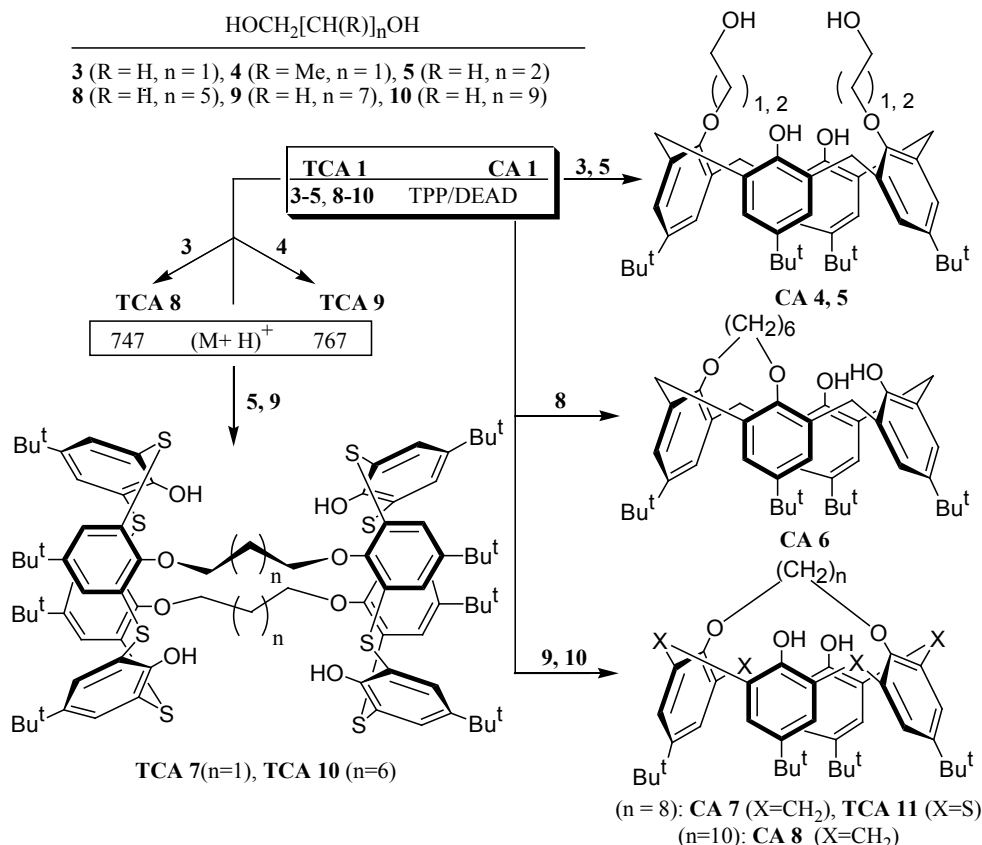


4. ábra. A gyűrűzárási reakció mechanizmusa

3.1.3. Kalix[4]arének és tiakalix[4]arének reakciója alifás 1,n-diolokkal²⁴

A templát nélküli reakcióban fellépő váratlan regioselektivitás további tanulmányozása (és az arra adott feltételes magyarázat igazolása vagy cáfolata) céljából olyan egyszerű alifás diolokat választottunk a C₂-C₁₀ tartományban,

amelyek között az eddig alkalmazott oligoetilén-glikolokhoz közelítőleg hasonló láncösszeírás is voltak. A reakciókat az előzőek szerint toluolban végeztük 1,2-etándiollal (3), (±)-1,2-propándiollal (4), 1,3-propándiollal (5), 1,4-butándiollal (6), *cisz*-2-buten-1,4-diollal (7), 1,6-hexándiollal (8), 1,8-oktándiollal (9) és 1,10-dekándiollal (10) (5. ábra).



5. ábra. Kalixarének reakciói 1,n-diollokkal.

Az 1,4-butanediollal (6) és a *cisz*-2-buten-1,4-diollal (7) végzett reakciók a C₄ diolok tetrahydrofuránna vagy dihydrofuránna történő gyors gyűrűzárása miatt nem vezettek eredményre. Az ezeknél hosszabb szénláncú diolok a kalixarén (CA) és a tiakalixarén (TCA) esetében teljesen eltérő eredményt adtak.

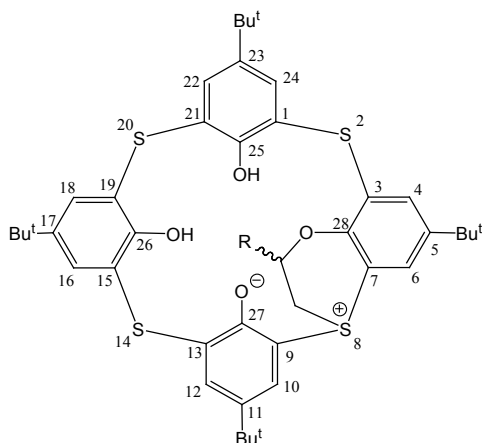
A kalixarén nem zárt gyűrűt 3 etán- és 5 1,3-propándiollal, CA4 (69%) és CA5 (43%) nyíltláncú 1,3 dialkilezett termékek keletkeztek. A 8 1,6-hexándiollal CA6 1,2-proximálisan áthidalt származék képződött (33%), csakúgy, mint a hasonló lánc hosszúságú dietilén-glikolból (CA3 1,2-kalixkorona-3, 52%). Ilyen párhuzamot vonhatunk a 9 1,8-oktándiol és trietilén-glikol, valamint a 10 1,10-dekándiol és tetraetilén-glikol reakcióinak eredményei között (CA7: 40%, CA2b: 37%; CA8: 43%, CA2c: 65%). Mindkét diol lánc elemezően hosszú a disztális helyzetű OH csoportok áthidálásához és így CA7, CA8 1,3-áthidalt karbociklusok (hasonlóan CA2b, c korona analógokhoz) képződéséhez (5. ábra).

A tiakalixarénnel végzett reakciók már nem adtak lehetőséget ilyen egyértelmű következtetések levonására. Mindig többkomponensű termékegy keletkezett, de az 1,3-propándiol (5) és az 1,8-oktándiol (9) esetében sikerült csekély termeléssel TCA7 (8%) és TCA10 (2,7%) dimereket tisztán kinyerni. Utóbbi reakció elegyből főtermékként TCA11 1,3-áthidalt karbociklust izoláltuk (20%). Az 1,6-hexándiolos (8) és 1,10-dekándiolos (10) kísérletekből már nem kaptunk értékelhető eredményt.

Úgy tűnik, hogy a fenti eredmények az intramolekuláris ciklizáció preferenciájának – „hidrogén kötéses templátot” feltételező – hipotézisét nem erősítik meg. A vizsgált alifás 1,n-diollokkal ilyen effektus nem léphet fel, de a reakció kimenetele – ha nem is oly egyértelmű – mégis hasonló, mint az oligoetilén-glikollokkal. Bár utóbbiakkal a TCA esetében egy ilyen irányító hatást nem lehet kizárni (lásd a szelektivitás jelentős csökkenése TCA és C₆₋₁₀-diolok reakciójakor), mindazonáltal úgy látszik, hogy a folyamat végeredményét döntően az *intermediér reaktív centrumainak intramolekuláris távolsága* szabja meg. Ezek a CA és a vizsgált glikolok többsége esetében éppen megfelelnek az 1,3 (vagy 1,2)-áthidáláshoz, de a nagyobb méretű TCA reakciójakor az illeszkedés nem optimális.

Ha összevetjük TCA5, 7 és 10 dimerek termeléseit, akkor arra juthatunk, hogy a 2:2 arányú termék kialakulásának esélye közepes lánc hosszánál a legnagyobb (TCA5, 40%), rövidebb és hosszabb lánc hosszánál csökken (TCA7, 8%; TCA10, 2,7%: itt már TCA11 a domináns termék). Ezt a tendenciát igazolandó, elvégeztük TCA1 reakcióját a homológ sor legkisebb tagjaival, 3 1,2-etán- és 4 1,2-propándiollal. Bár szobahőmérsékleten nem tapasztaltunk átalakulást, 110°C-on egy-egy főterméket (TCA8 és TCA9) kaptunk, amelyek FAB-MS felvételei (747, ill. 761 [M+H]⁺) egy etilén illetve egy propilén csoport beépülését jelezték a tiakalix[4]arén molekulába. Az NMR adatok kizárták a proximális 1,2-O,O-áthidálás kialakulását, helyette az egyik szulfid csoport eddig példa nélkül álló alkilezésével magyarázhatók, amelynek során egy hattagú benzoxatiin

gyűrű alakul ki. Ha ez a feltételezés igaz, akkor az alkilezett kénatom **TCA8** és **TCA9** molekulákban pozitív töltésű, amelynek ellenionja egy szomszédos fenolát anion. Az unikális *O,S*-ciklusos szulfónium-fenoxid betain szerkezetet mindkét molekula teljes NMR jelhozzárendelésével bizonyítottuk (6. ábra).²⁴



TCA 8 (R=H), **TCA 9** (R=Me)

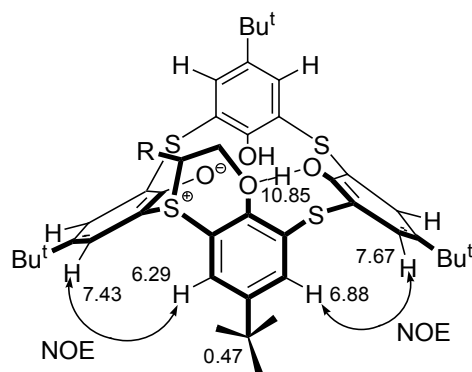
6. ábra. *O,S*-ciklusos szulfónium-fenoxid betainok

A szerkezetfelderítés egyik fontos eleme a fenolát csoport asszignációja, amit pl. **TCA8** esetében a 166,5 ppm-nél megjelenő, oxigénhez kapcsolódó C-27 kvaterner aromás szénatomhoz rendeltünk. Ez, összehasonlítva a fenol egységek C-25, 26 szénjeleivel (155-160 ppm) jelentősen nagyobb, ugyanakkor a Bu^t csoporthoz kapcsolódó szénjel (136,4 ppm) ugyanebben a gyűrűben a fenolok megfelelő jeleihez (141-142 ppm) képest, kisebb kémiai eltolódásnál jelenik meg. Ismeretes, hogy a fenolát *ipso* helyzetű C-O- jele a fenolhoz képest 12,7 ppm-mel a kisebb téror, míg a *para* helyzetű szénjel 6,3 ppm-mel a nagyobb téror irányába tolódik el.²⁵ Ezek az adatok összevetve a fentiekkel, egyértelműen alátámasztják egy fenolát ellenion jelenlétét. Ezt azonban kémiai úton is bizonyítottuk, elkészítettük **TCA9** betain perklorát sóját, s amint az várható volt, a fenolát jelek a fenol kémiai eltolódásaira változtak (C_{*ipso*}-27: 166,5 ppm-ről 154,4 ppm-re, és C_{*para*}-11: 135,9 ppm-ről 145,9 ppm-re).

Érdekes, hogy a NOESY mérések alapján a **TCA8** és **TCA9** betainok konformációja részlegesen kónikus (7. ábra), ahol az *O*-alkilezett és a két szomszédos aromás gyűrű egyállású. Minthogy a negyedik gyűrű protonjaival a másik kettő nem mutatott térközelséget, így ez ellentétes állású kell legyen. Ezzel szemben a **TCA9·HClO₄** só egy kilapult *kónikus* konformációt vesz fel, melyben az *O*-alkilezett és a vele szemben lévő aromás gyűrű párhuzamosan áll, míg a másik kettő kilapult (Bu^t: 0,90 és 1,32 vs. 1,31 és 1,34 ppm).

A merev szerkezetű betainok inherens kiralitással rendelkeznek, mivel nincs szimmetria elemük. Ezen kívül **TCA9**-ben egy további aszimmetria centrum is található a benzoxatiin gyűrűn. Emiatt, a metilcsoport helyzetétől függően, két diasztereoizomer keletkezésével lehet számolni. Az NMR spektrumok azonban csak egy jelsorozatot

mutattak, tehát csak egy diasztereoizomert kaptunk. A NOESY mérés alapján a metil csoportot és a H-22, H-24 protonokat nem találtuk térközben, következésképpen előbbi valószínűleg a gyűrűtől kifelé mutat. A molekulák királis szerkezetét **TCA9** esetében igazoltuk. Pirkle reagens ((*R*)-1-(9-antril-2,2,2-trifluoroetanol) jelenlétében CDCl₃-ban felvett spektruma a proton jelek 1:1 arányú felhasadását mutatja, ami racém elegyre utal.

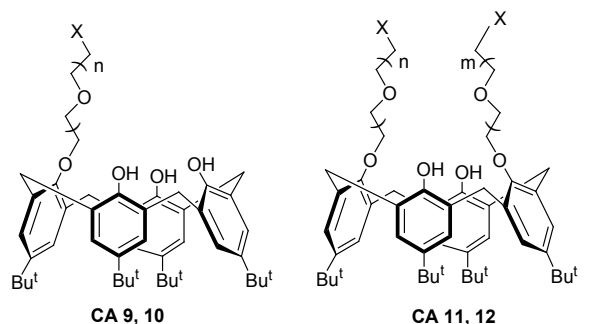


TCA 8 (R=H)
TCA 9 (R=Me)

7. ábra. A szulfónium betainok térszerkezete (Az NMR adatok a **TCA8**-re vonatkoznak)

4. *p*-*terc*-Butilkalix[4]arén alkilezése halohidrinekkel. Kalix[4]azakorona éterek előállítás²⁶

A kalix[4]azakorona éterek iránt az utóbbi időben nagy érdeklődés nyilvánul meg, mivel az amino csoporton keresztül könnyen lehet további szubsztituenseket, pl. kromofor vagy fluorofor egységeket kapcsolni a gyűrűhöz).²⁷⁻³³ Azonban a nitrogén atom helyzetét tekintve aszimmetrikus származékokat eddig még nem írtak le, amit körülményes előállíthatóságuk magyarázhat. A Mitsunobu reakcióval ez a probléma könnyen megoldható, a ciklizáció prekurzorai gyorsan és kényelmesen elkészíthetők (8 ábra).



CA	9a	9b	9c	10a	10b	11a	11b	11c	11d	12a	12b	12c
X	Cl	Cl	Cl	TsO	TsO	Cl	Cl	TsO	TsO	Cl, Br	Cl	Cl
n	1	2	3	1	2	1	2	1	2	3	2	3
m	-	-	-	-	-	1	2	1	2	0	1	1

Reakció körülmények: toluol, 25°C. 1-2 ó

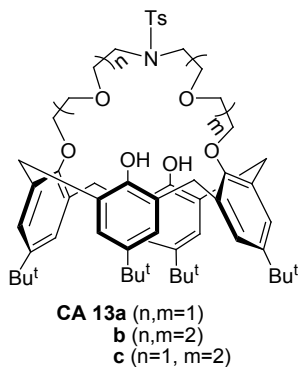
CA9: CA1, HOCH₂(CH₂OCH₂)_nCH₂X, TPP/DEAD = 1/2,3/2,3

CA12: CA9, HOCH₂(CH₂OCH₂)_mCH₂X, TPP/DEAD = 1/2,3/2,3

CA10: CA1, HOCH₂(CH₂OCH₂)_nCH₂X, TPP/DEAD = 1/3,5/3,5

8. ábra. Kalix[4]mono-és diéterek reaktív terminális csoporttal

A **CA9** monoéterek acetonitrilben forralva K_2CO_3 bázis jelenlétében önkondenzációs reakciókban gyűrűt zárnak. A rövid láncú **CA9a**-ból 1,2-korona-3 (**CA3**), a hosszabb láncú **CA9b**-ből főleg **CA2a** 1,3-korona-4 gyűrű alakul ki, kevés 1,2-áthidalt termék mellett. A leghosszabb láncosszú **CA9c** esetén csak **CA2b** 1,3-kalix(korona-5) képződik. Láthatjuk tehát, hogy a kétlépéses reakció és az ugyanilyen láncosszúságú glikolokkal végzett Mitsunobu ciklizáció termékei azonosak²¹ (3. ábra).



9.ábra. Kalix[4]azakorona éterek

A **CA11a,b** és **12b** bisz(klóréter) származékokat *p*-toluol-szulfonamiddal K_2CO_3 bázis jelenlétében DMF-ban ciklizálva kaptuk **CA13a, b** szimmetrikus- és **CA13c** aszimmetrikus védett azakoronákat (9. ábra). Ezt a módszert eddig csak szabad fenolos OH-t nem tartalmazó modellek esetében használták, hogy az önkondenzációt elkerüljék. Molekuláinkkal ilyen mellékreakciót nem tapasztaltunk, mivel a tozilamid NH-k sokkal savasabbak, mint a kalixarén OH csoportjai. Érdekes megemlíteni, hogy a reaktívabb **11c,d** bisz-toziléterekkel hasonló körülmények között kisebb termeléseket értünk el.

A **CA12a, c** vegyes diéterek esetén a ciklizáció nem volt sikeres. Eredményeink azt mutatják, hogy a gyűrűzárás kimenetele nem a képződő azakorona gyűrű méretétől, sokkal inkább a prekursor láncösszeállításának különbségétől függ (ha $n-m > 1$, nincs ciklizáció).

5. Összefoglalás

A Mitsunobu reakció egyedülállóan hatékony módszer kalixarén és a tiakalixarén szelektív 1,3-dialkilezésére alkoholokkal és ciklizációjára diolokkal. Segítségével elsőként szintetizáltunk szabad fenolos hidroxil csoportokat tartalmazó tiakalix[4]monokorona étereket, tiakalixarén dimereket, valamint az unikális szerkezetű *O,S* ciklusos szulfónium-fenoxid betainokat. Utóbbiak még a szulfónium sók kémiájában sem ismertek, ugyanakkor ezek az első példák a tiakalixarén váz szulfid hidjának alkilezésére.

Köszönetnyilvánítás

A szerzők köszönetet mondanak az Országos Tudományos Kutatási Alapprogramok Irodának a kutatás pénzügyi támogatásáért (OTKA T 031864 és T 034347). Cs. V. köszöni a Varga József Alapítvány ösztöndíját.

Hivatkozások

- Shinkai, S.I. *Tetrahedron* **1993**, *49*, 8933-8968.
- Böhmer, V. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 713-745.
- Matsumiya, H.; Terayono, Y.; Iki, N.; Miyano, S. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **2002**, 1166-1172.
- Lhoták, P.; Himl, M.; Pakhomova, S.; Stibor, I. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 8915-8918.
- Iki, N.; Narumi, F.; Fujimoto, T.; Morohashi, N.; Miyano, S. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1998**, 2745-2750.
- Akdas, H.; Mislin, G.; Graf, E.; Hosseini, M.W.; De Cian, A.; Fischer, J. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 2113-2116.
- Lhoták, P.; Himl, M.; Stibor, I.; Petricková, H. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 9621-9624.
- Lhoták, P.; Kaplanek, L.; Stibor, I.; Lang, J.; Dvoráková, H.; Hrabal, R.; Sykora, J. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 9339-9344.
- Iki, N.; Morohashi, N.; Narumi, F.; Fujimoto, T.; Suzuki, T.; Miyano, S. *J. Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 7337-7341.
- Narita, M.; Higuchi, Y.; Hamada, F.; Kumagai, H.; *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 8687-8690.
- Lamartine, R.; Bavoux, C.; Vocanson, F.; Martin, A.; Senlis, G.; Perrin, M. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *423*, 1021-1024.
- Rao, P.; Hosseini, M.W.; De Cian, A.; Fischer, A. *Chem. Commun.* **1999**, 2169-2170.
- Grün, A.; Csokai, V.; Parlagh, Gy.; Bitter, I. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 4153-4156.
- Csokai, V.; Grün, A.; Parlagh, Gy.; Bitter, I. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 7627-7629.
- Mitsunobu, O. *Synthesis* **1981**, 1-28.
- Hughes, D.L. *Org. React.* **1992**, *42*, 335-656.
- Dondoni, A.; Marra, A.; Scherrmann, M.-C.; Casnati, A.; Sansone, F.; Ungaro, R. *Chem. Eur. J.* **1997**, *3*, 1774-1782.
- Wang, J.; Gutsche, C.D., *Struct. Chem.* **2001**, *12*, 267-274.
- Bitter, I.; Csokai, V. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 2261-2265.
- Akdas, H.; Bringel, L.; Bulach, V.; Graf, E.; Hosseini, M.W.; De Cian, A. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 8975-8979.
- Csokai, V.; Grün, A.; Bitter, I. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 4681-4684.
- Takahashi, M.; Ogasawara, K.: *Tetrahedron: Asymmetry* **1997**, *8*, 3125-3130.
- Arduini, A.; Fabbi, M.; Mantovani, M.; Mirone, L.; Pochini, A.; Secchi, A.; Ungaro, R. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 1454-1457.
- Csokai, V.; Grün, A.; Balázs, B.; Tóth, G.; Horváth, Gy.; Bitter, I. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 477-480.
- Pretsch, E.; Clerc, T.; Seibl, J.; Simon, W.: *Tabellen zur Strukturaufklärung Organischer Verbindungen*; Springer-Verlag: Berlin, 1981; p C120.
- Grün, A.; Kőszegi, É.; Bitter, I. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 000 (in press).
- Ikedo, A.; Tsudera, T.; Shinkai, S. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 3568-3574.
- Kim, J.S.; Yu, I.Y.; Suh, A.H.; Ra, D.Y.; Kim, Y.W. *Synth. Commun.* **1998**, *28*, 2937-2944.
- Kim, J.S.; Shon, O.J.; Lee, J.K.; Lee, S.H.; Kim, J.Y.; Park, K.-M.; Lee, S.S. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 1372-1375.
- Kim, J.S.; Shon, O.J.; Rim, J.A.; Kim, S.K.; Yoon, J. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 2348-2351.
- Kim, J.S.; Shon, O.J.; Ko, J.W.; Cho, M.H.; Yu, I.J.; Vicens, J. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 2386-2392.
- Kim, J.S.; Shon, O.J.; Shim, W.; Kim, S.K.; Cho, M.H.; Kim, J.-G.; Suh, I.-H.; Kim, D.W. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **2001**, 31-36.
- Kim, J.S.; Shon, O.J.; Yang, S.H.; Kim, J.Y.; Kim, M.J. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 6514-6518.

Summary

Selective alkylations of calix[4]arenes with alcohols and glycols under the Mitsunobu protocol have been investigated. The reactions performed with various alcohols provide an easy and rapid access to calix[4]mono-, di- and tetraethers including derivatives with reactive terminal groups. The utilization of the latter intermediates for the preparation of calix[4]monoazacrowns was demonstrated.

The Mitsunobu cyclization of calix[4]arenes with glycols opens a new perspective for the synthesis of calixcrowns. The unprecedented O,S-cyclization of thiacalix[4]arene with 1,2-diols affords the unique sulfonium phenoxide betaines, which represent the first examples for the alkylation of the sulfide bridge.

Fullerénmolekulák lokális orientációinak vizsgálata mágneses magrezonancia (NMR) spektroszkópiával $\text{Na}_2\text{CsC}_{60}$ -ban

MATUS Péter,^{a,b,*} ALLOUL Henri^a és KRIZA György^b

^aLaboratoire de Physique des Solides, UMR 8502, Université Paris-Sud, Bâtiment 510, 91405 Orsay cedex, Franciaország

^bMTA Szilárdtestfizikai és Optikai Kutatóintézet, Konkoly-Thege Miklós út 29-33., 1121 Budapest, Magyarország

1. Bevezetés

Az igen magas szimmetriájú szén allotróp módosulat, a lassan két évtizede felfedezett C_{60} fullerén¹ számos érdekes anyag alkotóeleme. Ezen anyagok közé tartoznak az alkáli fémekkel adalékolt fullerén sók, amelyeket alkáli fémionok (A) fullerén rácsba való behelyezésével hagyományos kémiai úton nyerünk^{2,3} úgy, hogy az alkáli ionok a C_{60} lapcentrált köbös (fcc) molekularácsának rácsközi helyeit foglalják el. Mivel az alkáli ionok nem nagyon perturbálják a C_{60} Hückel-féle molekulapályáit, továbbá a töltésátvitel az alkáli fémekről a fullerén molekulákra közel 100%-os, ezért a C_{60} LUMO (legalacsonyabb betöltetlen molekulapálya) pályája tölthető be, amely t_{1u} szimmetriával és hatszoros degenerációval rendelkezik.⁴ Ennek következtében igen változatos viselkedés érhető el az adalékolás függvényében, a Jahn–Teller-szigetelőktől egészen a szupravezetőkig.⁵ Ez utóbbi az $n=3$ betöltésnél fordul elő, és további érdekessége, hogy a konvencionális BCS elmélettel jól leírható és viszonylag magas átalakulási hőmérséklettel rendelkezik a fullerén molekulákon belüli nagyfrekvenciás vibrációs módusoknak köszönhetően.⁶

A szupravezetés jelenségének előfordulása miatt talán a leginkább vizsgált alkáli fullerén só család az $A_3\text{C}_{60}$ -ak. Abban az esetben, amikor két különböző alkáli fémeket használunk az adalékolásnál, akkor a tetraédes szimmetriával rendelkező rácsközi helyet a kisebb, az oktaédes szimmetriával rendelkezőt pedig a nagyobb ionsugarú alkáli ionok preferálják.⁷ A nagyobb ionsugarú alkáli fémekkel (például: kálium, rubídium, cézium) a fullerén meroédesen rendezetlen lapcentrált köbös rácsot alkot (tércsoport $Fm3m$),^{2,3} ellentétben a kisebb sugarú alkáli ionokkal (például nátrium) létrehozott szerkezettel, ami azonos a tiszta C_{60} által alkotott molekularács szerkezetével.⁷ Ez utóbbi anyagokban egy elsőrendű fázisátalakulás történik a magas hőmérsékletű lapcentrált köbös fázisból az alacsony hőmérsékletű egyszerű köbös (sc) fázisba (tércsoport: $Pa3$).^{7,8} A fázisátalakulás során az elemi cella magas hőmérsékleten ekvivalens négy fullerén molekulája különbözővé válik azáltal, hogy elfordul a „standard orientációból” saját [111] tengelye körül.^{7,8} Ezen átalakulás C_{60} -ban 263 K-en, az $\text{Na}_2\text{A}\text{C}_{60}$ vegyületekben pedig szobahőmérséklet környékén megy végbe.⁷⁻⁹

2. $A_3\text{C}_{60}$ sók alkáli NMR vizsgálata: a T' vonal megjelenése

A mágneses magrezonancia (NMR) spektroszkópia ideális eszköz a lokális környezetek vizsgálatához. Mivel az A_3 fulleridekben az oktaédes (O) és a tetraédes (T) rácsközi

helyek betöltöttségének aránya $O : T = 1 : 2$, így azt váránk az alkáli NMR mérésektől, hogy 2 vonalat kapunk a két különböző alkáli hely szimmetriájának megfelelően, és ezen vonalak intenzitásarányának meg kell egyeznie a két különböző pozíció sztöchiometriai arányával. Ezzel szemben Rb_3C_{60} mintán végzett ^{87}Rb mérések azt a meglepő eredményt adták, hogy bár a fent vázolt elvárás magas hőmérsékleten (370 K felett) teljesül, de szobahőmérsékleten és alatta egy harmadik vonal is megjelenik az alkáli NMR spektrumban.¹⁰ Spinechó kettős rezonancia (SEDOR) mérések rámutattak, hogy e nem várt harmadik vonal egy módosult tetragonális alkáli helyből ered, ezért az irodalomban T' -vel jelölik.¹⁰ Később bebizonyosodott, hogy a T' csúcs általánosan megjelenik az $A_3\text{C}_{60}$ és az $A_2A'\text{C}_{60}$ vegyületekben, ahol A illetve A' céziumot, rubídiumot illetve káliumot jelöl.¹¹⁻¹³ A T' vonal nem várt megjelenése aztán sok kutatócsoportot arra ösztönzött, hogy különféle módszerekkel felvértezve komoly erőfeszítéseket tegyenek annak érdekében, hogy e jelenséget jobban megérthessük. Ennek ellenére a megnyugtató válasz mind a mai napig hiányzik. A főbb javaslatok a T' hely eredetének magyarázatára az alábbiak:^{10,14}

C_{60} orientációs hiba a tetraédes hely közelében

a T' hely egy tetraédes vakancia első szomszédja,

C_{60}^{3-} molekuláris Jahn–Teller-torzulás következményeként keletkezik,

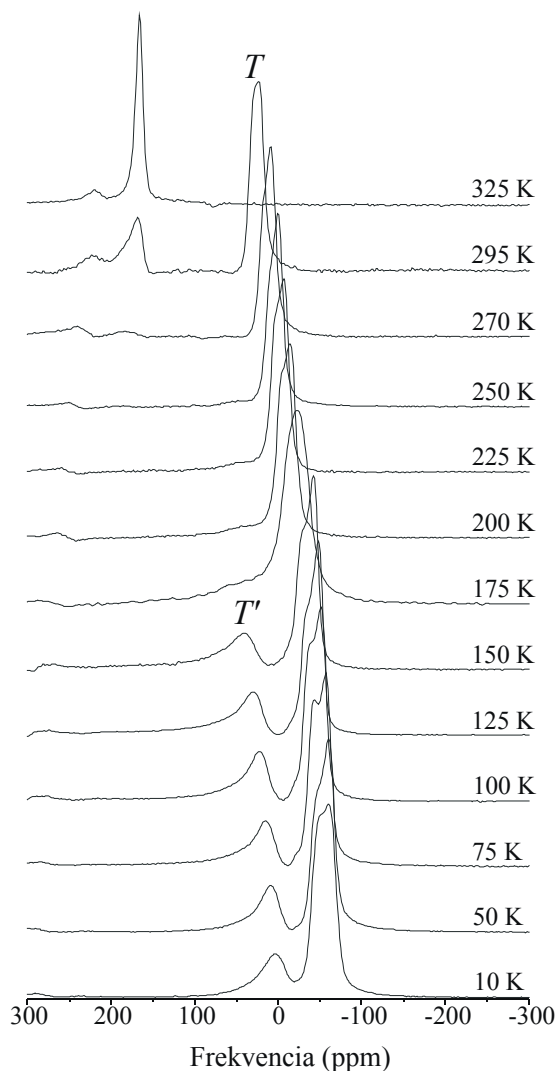
oktaédes helyen lévő alkáli ionok T' hely felé való elmozdulása okozza.

Sajnos kísérletileg egyik fenti javaslatot sem lehetett megerősíteni.^{15,16} A mi elképzelésünk az volt, hogy nátriumtartalmú $A_3\text{C}_{60}$ vegyületen vizsgáljuk meg a T' csúcs esetleges létezését, és pozitív eredmény esetén az a strukturális különbség, ami a nátrium- és az eddig vizsgált más alkáli-fulleridek között van, a T' probléma megoldásának kulcsa lehet. Vizsgálatainkat $\text{Na}_2\text{CsC}_{60}$ vegyületen végeztük, mert a még szóba jöhető $\text{Na}_2\text{RbC}_{60}$ és $\text{Na}_2\text{KC}_{60}$ sókban a C_{60} molekulák spontán polimerizálódnak 250 K illetve 305 K hőmérsékleten,¹⁷ míg a $\text{Na}_2\text{CsC}_{60}$ -ban nem figyelhető meg polimerizáció, és a kristályszerkezet a tiszta C_{60} -hoz hasonló köbös rács.⁷ Ezek a tulajdonságok a $\text{Na}_2\text{CsC}_{60}$ -at kísérleteink ideális alanyává teszik.

3. Eredmények $\text{Na}_2\text{CsC}_{60}$ vizsgálatokor

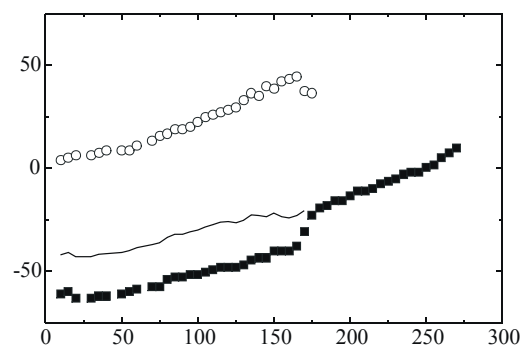
Kísérleteink során az $\text{Na}_2\text{CsC}_{60}$ ^{23}Na NMR spektrumát vizsgáltuk a hőmérséklet függvényében, melyet az 1. ábrán jelenítettünk meg. A vonal helyének ugrásszerű

* Tel.: (1) 392-2222/ 1271; fax: (1) 392-2215 ; e-mail: matus@szfki.hu.



1. ábra. $\text{Na}_2\text{CsC}_{60}$ ^{23}Na NMR spektruma 7,5 T mágneses térben. (Frekvenciaskála NaI standardhoz képest értendő, a hőmérsékletértékek a spektrumok jobb oldalán jelöltek.)

változása 300 K körül az anyag elsőrendű szerkezeti fázisátalakulásának tulajdonítható.^{7,18} A 295 K-es spektrumban egyszerre van jelen a két fázisnak megfelelő vonal. Tovább csökkentve a hőmérsékletet 200 K alatt először egy kis váll, majd 175 K-nél egy második csúcs jelenik meg a spektrumban 50 ppm körül, ami egészen alacsony hőmérsékletekig megfigyelhető. E csúcs, amelyet nátriumtartalmú alkáli-fulleridekben tudomásunk szerint még senki sem észlelt, teljesen hasonlóan viselkedik a más anyagokban már detektált T' csúcsához, ezért a továbbiakban ezt a vonalat is T' -vel jelöljük. Megjegyezzük, hogy a T vonal a vizsgált hőmérséklettartományban másodrendű kvadrupólus kiszélesedést mutat, azaz a hely szimmetriája köbösnél alacsonyabb, lentebb ismertető megfontolásaink szerint valószínűleg C_3 . Ez a megfigyelés összhangban van a neutrondiffrakciós⁷ és korábbi NMR mérésekben találtakkal.¹⁸



2. ábra. ^{23}Na NMR spektrum komponenseinek vonaleltolódása a hőmérséklet függvényében a NaI referenciaadathoz képest $\text{Na}_2\text{CsC}_{60}$ -ban. (A négyzetek a T csúcs, a körök a T' csúcs eltolódásait, a folytonos vonal pedig a spektrum első momentumát jelzi.)

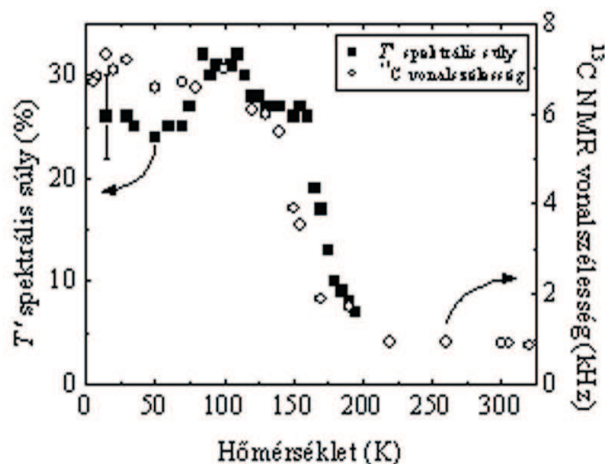
SEDOR mérések¹⁹ ebben az esetben is azt mutatták, hogy a két vonal, T és T' , mikroszkopikusan keveredik, ezért kizárható, hogy a T' csúcs egy más szerkezetű szennyező fázisból származik. Ezt a mikroszkopikus keveredést megerősíti a 2. ábrán látható jeleltolódás görbe. Ezen az ábrán feltüntettük a T és T' vonalak helyét a hőmérséklet függvényében, valamint alacsony hőmérsékleten a kétvonalas spektrum első momentumát, ami a T és T' csúcsok intenzitásaikkal súlyozott átlagából kapható. Látható, hogy a T' csúcs megjelenése alatti hőmérsékleteken a spektrum első momentuma követi a T' csúcs megjelenése fölötti hőmérsékletfüggést. Ez a viselkedés kizárja a T' csúcs valamilyen fázisátalakulástól származtatható eredetét, és inkább egy dinamikus átmenetet feltételező magyarázatot sugall.

E hipotézist erősíti a 3. ábrán együttesen ábrázolt ^{13}C vonalszélesség és a T' vonal spektrális súlyának kapcsolata. Megfigyelhető, hogy az NMR spektrumok időskáláján a fullerén labdák forgásának lassulása, amely a ^{13}C vonal szélesedését eredményezi, azonos hőmérsékleten történik a T' vonal megjelenésével.

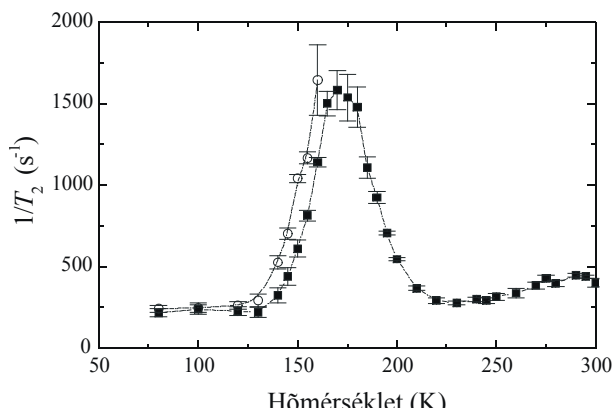
A spin-spin relaxációs ráta ($1/T_2$) hőmérsékletfüggése a 4. ábrán látható. A relaxációs időt a spinechó amplitúdó késleltetési időtől való függéséből számoltuk. Megállapítható, hogy a T vonal görbéjének maximuma van 170 K környékén, amely hőmérséklet a T' csúcs megjelenésének hőmérséklete, illetve a T' vonal relaxációs rátája erősen növekszik, ha közelítünk ehhez a hőmérséklethez.

4. Diskusszió

Kísérleteink az egyszerű köbös szerkezetű $\text{Na}_2\text{CsC}_{60}$ mintán azt mutatták, hogy a tetraéderes szimmetriájú alkáli helyhez társított NMR vonal alacsony hőmérsékleti felhasadása nem csupán a meroéderesen rendezetlen A_3C_{60} vegyületekre



3. ábra. Sztatikus ^{13}C NMR vonalszélesség (körök, jobb skála) és a T' vonal spektrális súlya (T' intenzitás a $T+T'$ teljes intenzitáshoz viszonyítva) (négyzetek, bal skála).



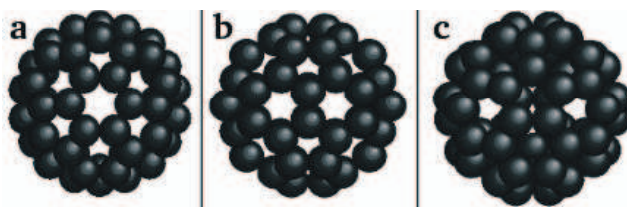
4. ábra. ^{23}Na NMR spin-spin relaxációs rátája a hőmérséklet függvényében $\text{Na}_2\text{CsC}_{60}$ -ban. (A négyzetek a T_1 , a körök a T' vonalhoz tartozó értékeket jelölik.)

jellemző, hanem az A_3 anyagcsalád általános tulajdonsága, noha a jelenség részletei különböznek az egyszerű köbös és a lapcentrált köbös rendszerekben. Megjegyezzük, hogy korábbi mérések nem mutatták $\text{Na}_2\text{CsC}_{60}$ -ban a T' csúcs megjelenését,¹⁸ amit annak tulajdoníthatunk, hogy ebben a munkában a T vonalszélesség nagyobb, mint az általunk mért $T-T'$ felhasadás. A nagyobb vonalszélesség a kisebb alkalmazott sztatikus mágneses térből és így a T vonal másodrendű kvadrupólus kiszélesedéséből eredt.

A spektrum alakja, a jeletolódások (T és T') viselkedése a felhasadási hőmérséklet alatt és felett, a spin-spin relaxációs ráta viselkedése azt sugallja, hogy T és T' vonal között kémiai kicserélődés megy végbe. Mivel a $\text{Na}_2\text{CsC}_{60}$ -ban a ^{13}C vonal szélessége ugyanolyan hőmérsékletfüggést mutat, mint a T' vonal intenzitása (lásd 3. ábra), továbbá a ^{13}C vonal szélességét a fullerén molekulák rotációs diffúziója határozza meg a mozgási keskenyedés révén, ezért a T illetve T' vonal közötti kicserélődés valószínűleg az elsőszomszéd fullerén ionok dinamikájából származik. Neutrodiffrakciós mérések alapján olyan szerkezetet javasolnak a $\text{Na}_2\text{CsC}_{60}$ -ban,⁷ hogy az egyszerű köbös fázisban közel azonos energiával

kétféle fullerén orientáció létezik. A két orientáció között a különbség a „standard orientációtól” való $[111]$ tengely körüli elfordulás szögében van. Ezek a szögek 98° (többségi orientáció) és 38° (kisebbségi orientáció). A fullerének e kétféle orientációja (ami egyébként teljesen azonos a tiszta C_{60} -ban megfigyelt fullerén orientációkkal²⁰) két különböző tetraédes környezetet eredményez.

A többségi esetben a négy elsőszomszéd fullerén ion úgy rendeződik, hogy a nátrium ion egyik szomszédja hatos gyűrűt (5.a. ábra), a három további szomszéd kettős kötést (hatos és ötös gyűrűk közös éle) (5.b. ábra) fordít a Na ionnal szembe. A kisebbségi esetben pedig a Na ion szintén egy hatos gyűrűvel kerül szembe (5.a. ábra), akárcsak a többségi esetben, valamint három nem pontosan centrikus ötös gyűrűvel (5.c. ábra). Valószínűsíthetően a nátrium ionok kis sugara az, ami a tiszta fullerénnel azonos szerkezetet eredményezi a $\text{Na}_2\text{CsC}_{60}$ -ban. Ennélfogva a tetraédes vonal felhasadása e különböző fullerén környezetekhez természetes módon társítható.



5. ábra. Lokális fullerénkonfigurációk $\text{Na}_2\text{CsC}_{60}$ -ban a nátrium ionokból nézve neutrodiffrakciós mérések alapján. (a) A nátrium ionok egy hatos gyűrű felé néznek (mind a többségi és a kisebbségi orientációban). (b) A nátrium ionok három kettős kötés felé néznek a többségi orientáció esetén; (c) a nátrium ionok három nem pontosan centrikus ötös gyűrű felé néznek a kisebbségi orientáció esetén.

Mivel a fullerénmolekulák dinamikája hőmérséklettel aktivált,⁷ csökkenő hőmérséklettel a mozgás lelassul. A T' vonal azon a hőmérsékleten jelenik meg, amikor az NMR spektrum karakterisztikus ideje (a $T-T'$ frekvenciakülönbség inverze) megegyezik a $T-T'$ kicserélődés korrelációs idejével. Ekkor a C_{60} -ak forgása már nem elég gyors ahhoz, hogy a lokális szerkezetek különbségeit kiátlagolja, és így különválnak a T és T' csúcs.

Az eddig vizsgált meroédesen rendezetlen szerkezetű $A_3\text{C}_{60}$ vegyületek között különbség, hogy a T' vonal milyen hőmérsékleten jelenik meg. Általánosságban elmondható, hogy az NMR által detektált módosult tetraédes hely annál magasabb hőmérsékleten jelenik meg, minél nagyobb az alkáli ion sugara a tetraédes helyen.¹³ Mivel e nagyobb ionsugarú ionok könnyebben gátolhatják a C_{60}^{3-} -ok forgását, ezért feltételezhetjük, hogy a jelenség szintén a fullerén ionok forgó mozgásával lehet kapcsolatban.

Eredményeink, és a T' vonal megjelenésére adott magyarázatunk hatással lehet a meroédesen rendezetlen $A_3\text{C}_{60}$ anyagokban előforduló hasonló jelenség értelmezésére. Ezekben az anyagokban a lokális struktúra diffrakciós módszerekkel történő meghatározása komoly nehézségekbe ütközik a fellépő rendezetlenség miatt, ezért az NMR spektroszkópia jelentősen hozzájárulhat a lokális szerkezet meghatározásához, és ezzel a több mint 10 éves T' probléma megoldásához.

6. Kísérleti rész

A méréseinkhez használt $\text{Na}_2\text{CsC}_{60}$ porminta nátrium, cézium és fullerén sztöchiometrikus mennyiségének hagyományos szilárdtest-reakciójából képződött⁷ Forró László laboratóriumában (EPFL, Lausanne) Slaven Garaj közreműködésével. A minta tisztaságát röntgendiffrakció segítségével ellenőrizték. 100 mg port He atmoszféra alatt kvarccsőbe zártak és ezt az NMR mérések céljából egy folyamatos gázáramú kriosztátba helyezték. Mintánk $T_c = 12$ K-en szupravezetővé vált, a szupravezető hányadot 38%-nak találtuk a mágneszettség méréséből. Az NMR kísérletekben az alkalmazott sztatikus mágneses tér 7,5 T volt (^{23}Na Larmor-frekvenciája: 84,395 MHz). A rádiófrekvenciás gerjesztő terünk kb. 10 mT volt, amely 2 μs hosszúságú 90°-os impulzushosszt eredményezett. A szabad precessziós jel (FID) gyűjtését egy házilág készült homodin elvű spektrométerrel végeztük. A spektrumokat a szabad precessziós jelek Fourier-transzformációjával nyertük.

Köszönetnyilvánítás

Hálásak vagyunk Slaven Garajnak és Forró Lászlónak a minta elkészítéséért. Köszönetünket szeretnénk kifejezni az igen hasznos diszkusszióért Oszlányi Gábornak, Zaránd Gergelynek, Roger Moret-nak és Kosmas Prassidesnek. További köszönet illeti Roger Moret-t az 5. ábra rendelkezésünkre bocsátásáért. Egyik szerzőnk (M. P.) hálás az Orsay-i csoport vendégszeretetéért és az EU 5. keretprogramján belüli „STROCOLODI” alprogram Marie Curie ösztöndíjért. A magyarországi kutatást az OTKA a T0373976 és TS040878 programokon keresztül támogatta.

Hivatkozások

1. Kroto, H. W.; Heath, J. R.; O'Brien, S.; Curl, R. F.; Smalley, R. E. *Nature (London)* **1985**, *318*, 162-163.

2. Stephens, P. W.; Mihály, L.; Lee, P.; Whetten, R.; Huang, S. M.; Kaner, R.; Diederich, F.; Holczer, K. *Nature (London)* **1991**, *351*, 632-634
3. Murphy, D. W.; Rosseinsky, M. J.; Fleming, R. M.; Tycko, R.; Ramirez, A. P.; Haddon, R. C.; Siegrist, T.; Dabbagh, G.; Tully, J. C.; Walstedt, R. E. *J. Phys. Chem. Solids* **1992**, *53*, 1321-1332.
4. Haddon, R. C. *Acc. Chem. Res.* **1992**, *25*, 127-133.
5. Margadonna, S.; Prassides K. *J. Solid State Chem.* **2002**, *168*, 639-652.
6. Hebard, A. F. *Phys. Today* **1992**, *45*, 26-32.
7. Prassides, K.; Christides, C.; Thomas, I. M.; Mizuki, J.; Tanigaki, K.; Hirose, I.; Ebbesen, T. W. *Science* **1994**, *263*, 950-954.
8. Heiney, P. A. *J. Phys. Chem. Solids* **1992**, *53*, 1333-1352.
9. Tanigaki, K.; Hirose, I.; Manako, T.; Tsai, J. S.; Mizuki, J.; Ebbesen, T. W. *Phys. Rev. B* **1994**, *49*, 12307-12310.
10. Walstedt, R. E.; Murphy, D. W.; Rosseinsky, M. *Nature (London)* **1993**, *362*, 611-613.
11. Alloul, H.; Holczer, K.; Yoshinari, Y.; Klein, O. *Physica C* **1994**, *235*, 2509-2510.
12. Yoshinari, Y.; Alloul, H.; Holczer, K.; Forró, L. *Physica C* **1994**, *235*, 2479-2480.
13. Stenger, V. A.; Recchia, C.; Pennington, C. H.; Buffinger, D. R.; Ziebarth, R. P. *J. Supercond.* **1994**, *7*, 931-936.
14. Fischer, J. E.; Bende, G.; Dinnebier, R.; Stephens, P. W.; Lin, C. L.; Bykovetz, N.; Zhu, Q. *J. Phys. Chem. Solids* **1995**, *56*, 1445-1457.
15. Pennington, C. H.; Hahn, C.; Stenger, V. A.; Gorny, K.; Recchia, C. H.; Martindale, J. A. *Phys. Rev. B* **1996**, *54*, R6853-6856.
16. Gorny, K.; Hahn, C.; Martindale, J. A.; Yu, S.; Pennington, C. H.; Buffinger, D. R.; Ziebarth, R. P. *Phys. Rev. Lett.* **1997**, *79*, 5118-5121.
17. Cristofolini, L.; Kordatos, K.; Lawless, G. A.; Prassides, K.; Tanigaki, K.; Waugh M. P. *Chem. Commun.* **1997**, *4*, 375-376.
18. Saito, T.; Maniwa, Y.; Oda, H.; Kume, K.; Kosaka, M.; Hirose, I.; Tanigaki, K. *J. Phys. Soc. Jpn.* **1995**, *63*, 4513-4517.
19. Matus, P.; Singer, P. M.; Alloul, H.; Kriza, G.; Garaj, S.; Forró, L. (közlés előtt)
20. David, W. I. F.; Ibberson, R. M.; Dennis, T. J. S.; Hare, J. P.; Prassides, K. *Europhys. Lett.* **1992**, *18*, 219-225.

Fullerene orientational order in $\text{Na}_2\text{CsC}_{60}$ by nuclear magnetic resonance (NMR)

A long standing problem in the nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy of the alkali fullerenes A_3C_{60} ($A = \text{Rb}$ or K) is the splitting of the NMR line of the alkaline nuclei of tetrahedral C_{60} coordination.¹⁰⁻¹⁶ To gain new insight to this intriguing problem, we have investigated the ^{23}Na nuclear magnetic resonance (NMR) spectrum and spin-spin relaxation time in $\text{Na}_2\text{CsC}_{60}$ in the temperature range of 10 to 325 K. We find a single line above about 170 K but two lines (denoted by T and T' , respectively) are present below this temperature. The closely similar temperature dependences of the spin-spin relaxation rates of the two lines as well as the temperature dependence of the first moment of the spectrum both below and above of the temperature of line splitting

indicate a chemical exchange between these lines. Moreover, a correlation is found between the temperature dependence of the ^{13}C line width and the temperature dependence of the intensity of the T' line (the less intense line of the two). These findings lead us to suggest that the difference between the sodium sites giving rise to the T and T' lines lies in different angular orientations of the fullerene ions surrounding these sites. Based on x-ray structural results,²⁰ we make detailed propositions about the C_{60} orientations around the T and T' sites. These results suggest a similar origin of the T - T' splitting in A_3C_{60} , where structural data are less accurate because of the merohedral disorder of C_{60} molecules in this class of materials.

A réz korróziójának gátlása molekuláris nanofilm-bevonatokkal

TELEGDI Judit*, RIGÓ Tímea és KÁLMÁN Erika

MTA Kémiai Kutatóközpont, Pusztaszeri út 59/67, 1025 Budapest

1. Bevezetés

Vizes rendszerek fémes berendezési tárgyainak korrózióját festékekkel, makroszkopikus bevonatokkal, oldott adalékokkal illetve elektrokémiai úton lehet csökkenteni. Ezek a védekezési technikák az agresszív komponenseknek a fém felületéhez való jutását különböző mechanizmusokkal gátolják. A fémfelületek nanorétegekkel való módosítása helyettesítheti a hagyományos inhibíciós eljárásokat, s egyben csökkenti a vízben oldott korróziós inhibitorok környezetet károsító hatását. Szilárd hordozókon mono- és multimolekuláris rétegek létrehozására amfipatikus molekulák alkalmasak, amelyekből kétféle eljárással lehet szilárd hordozón filmet létrehozni. Az egyik egy filmmérleg segítségével előállítható Langmuir-Blodgett (LB) film, amelynek minőségét az izotermával és Brewster mikroszkóppal jellemzett Langmuir monomolekulás réteg határozza meg. A másik az önszerveződéssel kialakuló nanoréteg (SAM). Ez a folyamat az amfipatikus molekuláknak szilárd fém/fémoxid felülethez főként kemisorpcióval történő kapcsolódásával hozza létre a kívánt molekuláris filmet. Mindkét technikával tömör, rendezett szerkezetű stabil felületi réteg hozható létre. Az LB és SAM rétegeket egyre szélesebb körben alkalmazzák a molekuláris elektronikában, biokatalizátorként, illó anyagok detektálása mellett az elmúlt évtizedekben korróziós inhibítorként. Réz, ezüst, cink és vas felületén alkiltiolokat¹⁻⁷, karbonsavakat⁸⁻¹⁴, foszfonsavakat^{3,15-21}, kvaterner nitrogén tartalmú felületaktív anyagokat, szilánszármazékokat^{22,23}, hidroxámsavakat^{24,25} vizsgáltak LB filmben illetve önszerveződött molekuláris rétegekben. Az alkilhidroxámsavak önszerveződését vizsgálták különböző fémek felületén és megállapították, hogy ezek a vegyületek a fémek oxidos felületén képesek önszerveződni²¹. Néhány esetben az LB és a SAM rétegek tulajdonságait hasonlították össze²⁶.

A kutatások a molekulák szerkezete és a rétegek száma, valamint az antikorróziós hatékonyság közötti összefüggés tanulmányozására irányultak. Ha a vizsgált molekulában 12 szénatomnál rövidebb a szénlánc stabil SAM film képződhet, de LB film nem alakítható ki. Megállapították, hogy az önszerveződött molekuláris film elsősorban oxidos felületen keletkezik és a gátló tulajdonság mind a rétegek számától, mind az amfipatikus molekulák és fémfelület között kialakuló kötéstől függ. Az inhibíciós hatást a stabil filmképződéssel és az aktív helyek blokkolásával magyarázták. Megállapították, hogy az alkiltiolok és az alkilditiokarbamátok jelentősen csökkentik a fémoldódást. A szilánszármazékok esetében a fém felületén keletkezett multimolekuláris rétegek okozzák az antikorróziós hatást. A különböző mono- és difoszfonsavakból keletkező rendezett szerkezetű, önszerveződött molekuláris rétegek anódos inhibítorként viselkednek, a fémoldódást csökkentik¹⁹.

Korábbi kísérleteink során megállapítottuk, hogy a vizes közegben oldott benzidroxámsav- származékok kedvezően befolyásolják a réz korrózióját²⁷. Ezen ismeretekből kiindulva

határoztuk el, hogy homológ alkil hidroxámsavakból mono- és multimolekuláris rétegeket alakítunk ki kétféle technikával réz felületén s ezen nanorétegek antikorróziós hatását különböző módszerekkel vizsgáljuk.

2. Kísérleti rész

2.1. Langmuir-Blodgett és önszerveződött rétegek kialakítása

A gyémánt pasztával polírozott rézfelület módosításához szintetizált hidroxámsavakból ($C_nH_{2n+1}CONHOH$, $n = 11, 15, 17$, jelük: C12N, C16N, C18N) filmmérlegben (NIMA Technology 611D) a Langmuir monomolekulás réteg illetve az LB film legkedvezőbb előállítási körülményeit vizsgálva megállapítottuk, hogy a legtömörebb, rendezett szerkezetű LB filmet pH=5,6-os vizes fázison, 20°C-on tudjuk kialakítani. Az önszerveződött molekuláris rétegek a tetrahidrofuránban oldott alkil hidroxámsavakból alakultak ki szobahőmérsékleten.

2.2. A rétegek jellemzése

A Langmuir monomolekuláris rétegeket izotermákkal jellemeztük, morfológiájukat Brewster mikroszkóppal vizsgáltuk. A kétféle technikával módosított rézfelület hidrofób sajátosságát dinamikus kontaktszög-méréssel jellemeztük²⁸ (NIMA Tensiometer 9000).

Az LB és SAM rétegek morfológiai sajátosságait NaCl/Na₂SO₄ oldattal (0,1 mol dm⁻³, pH=3,5 ill. 7) való érintkezés előtt és után atomi erőmikroszkóppal (AFM, NanoScope III, Digital Instrument) jelenítettük meg. Ez a kísérleti technika lehetővé teszi metszeti analízissel a felületi egyenetlenség számszerűsítését is.

A nanorétegek antikorróziós viselkedését elektrokémiai polarizációs technikával vizsgáltuk (Radiometer Copenhagen, PGP201 potenciosztát-galvanosztát).

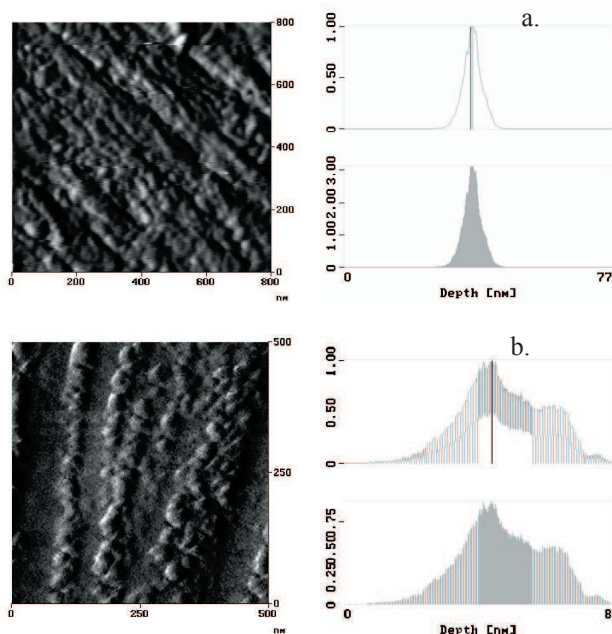
3. A kísérleti eredmények és értékelésük

Vizsgálataink során természetes oxidréteggel borított rézfelületen alakítottunk ki önszerveződött réteget²³. Ezt réz/rézoxid felületként jelöljük.

Az 1. ábra rézen a C18N vegyületből kialakított 11 rétegű LB film felületét és részecskeeloszlását, illetve ugyanezen molekulából a rézen önszerveződött réteget és a részecskeeloszlást mutatja be. Az ábra elemzéséből kiderül, hogy az LB filmmel módosított réz/rézoxid felület nagyjából azonos méretű részecskékből épül fel. A részecskék mérete a rétegszámmal növekedett (1. táblázat).

1. Táblázat. Rézen lévő LB film rétegszámfüggő átlagos részecskeméretei

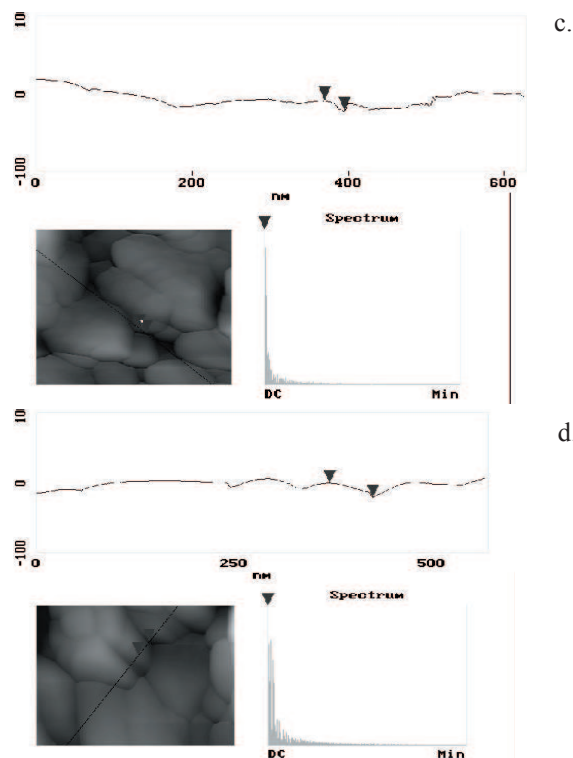
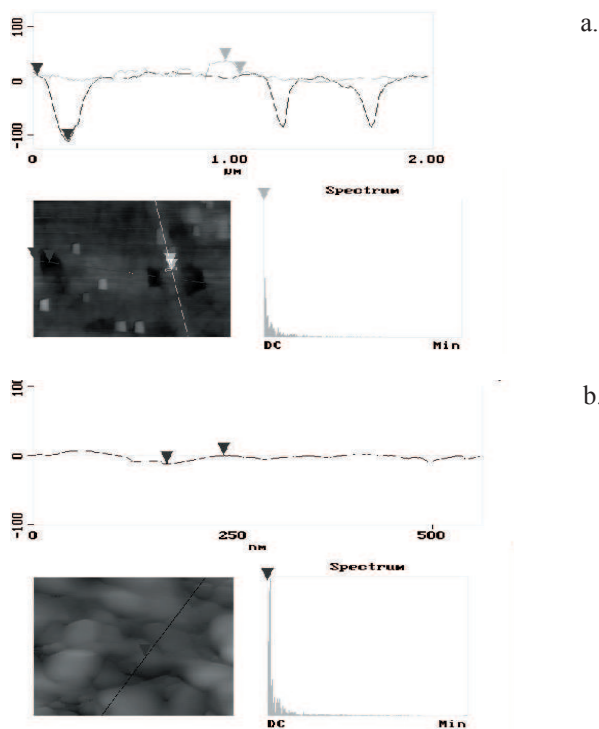
$C_{17}H_{35}CONHOH$	Részecskeméret [nm]
2 réteg	8.1
5 réteg	9.6
11 réteg	41.0



1. Ábra. AFM mérések rézen C18N-ből készült LB (a) és önszerveződött rétegek (b) morfológiájáról és részecskeeloszlásáról.

2. Táblázat. A különböző láncösszúságú hidroxámsavakból kialakult önszerveződött réteggel borított réz/rézoxid felületen mért részecskeméreteket

Molekula	átlagos részecskeméret [nm]
$C_{11}H_{23}CONHOH$	24,0
$C_{15}H_{31}CONHOH$	32,6
$C_{17}H_{35}CONHOH$	37,9

2. Ábra. Réz felületén önszerveződött rétegek védőhatásának vizsgálata atomi erőmikroszkóppal ($0,1 \text{ mol dm}^{-3} \text{ NaCl/Na}_2\text{SO}_4$; $\text{pH}=7$). (a) kontrol kísérlet, réz védőréteg nélkül, 30 perc után; önszerveződött rétegek 24 óra után: (b): C12N; (c): C16N; (d): C18N

Az LB réteggel borított réz oxidos felület atomi erőmikroszkópos képén (1. ábra) látható méreteloszlási görbe jól mutatja, hogy a felszín legnagyobb részét azonos méretű részecskék borítják, amely méretet a réz/rézoxid és az LB réteg közösen alakítanak ki. Az önszerveződés már kevésbé egységes felszínt eredményez, ami azzal magyarázható, hogy ez a folyamat a hidroxámsavak oldószeres oldatában megy végbe, amikor is az oldószer duzzasztó hatása jobban érvényesül. Ezt támasztják alá a réz/rézoxid felületen LB módszerrel kialakított szerves nanorétegek esetében kapott eredmények. Kis rétegszám esetén, amikor a fémhordozó csak rövid ideig érintkezik a vizes fázissal, lényegesen kisebb átlagos részecskeméretet kapunk. A rétegszám növekedése a rézfelületen jelentős részecskénövekedést eredményez (1. táblázat). A fémfelületen létrejövő önszerveződés a molekula alkilláncától csaknem független felszíni átlag-részecskeméretet mutat (2. táblázat).

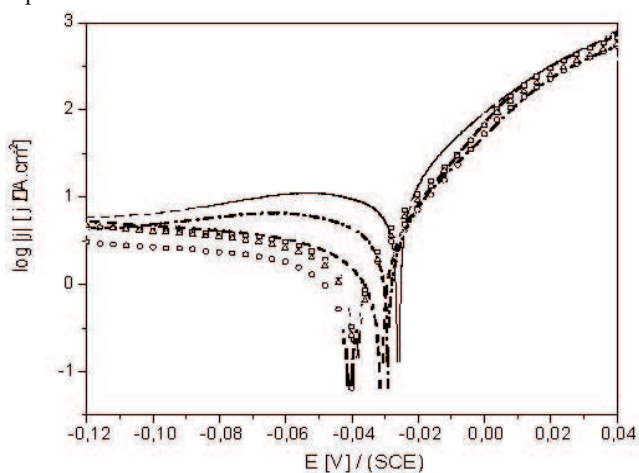
Az atomi erőmikroszkópos vizsgálatok egyértelműen mutatják a különböző hidroxámsavakból kialakult önszerveződött réteg védőhatását $\text{NaCl/Na}_2\text{SO}_4$ oldatban. A réteg nélküli rézfelület fél óra elteltével komoly korróziós termékfelhalmozódás és lyukkorrózió figyelhető meg. A lyukak mélysége a 100 nm-t is meghaladta. Ezzel szemben a C12N, C16N, C18N-ből önszerveződött rétegek 24 óra után is védték a fémfelületet a korróziótól. Ezt igazolják a metszeti analízissel bemutatott egyenletes, sima felületek (2. ábra).

Az LB és SAM rétegek korróziós folyamatokat visszaszorító hatását elektrokémiai polarizációs mérésekkel követtük. A nanoréteggel fedett rézelektrodok polarizációs görbéit mutatja be a 3. ábra. Az LB rétegek hatékonyságát a 3. táblázat adatai mutatják.

3. Táblázat. A polarizációs mérésekből számolt hatékonyság két különböző hidroxámsavból réz elektródon lévő LB rétegek esetében (rétegszám: 1; 0,1 mol dm⁻³ Na₂SO₄; pH=3,5; polarizációs sebesség: 10mVmin⁻¹)

Elektród	E _{kor} [mV]	j _{kor} [μAcm ⁻²]	η [%]
Réz	-26	0,91	-
réz + C16N LB	-29	0,35	62
réz + C18N LB	-31	0,25	73
réz + C18N SAM	-40	0,14	85
réz + C16N SAM	-39	0,16	82
réz + C12N SAM	-38	0,17	81

Az elektrokémiai vizsgálatok alapján (3. ábra, 3. táblázat) megállapítható, hogy savas közegben a korróziós potenciál mind az LB, mind a SAM rétegek jelenlétében a katódos irányba tolódik. A korróziós áramsűrűséget a rétegek jelentősen csökkentették jelezve a nanorétegek korróziógátló hatékonyságát. Az egyrétegű LB filmnél az önszerveződött molekuláris rétegek hatékonyabbak. A hidroxámsav molekulákban a szénatomszám növekedése nagyobb hatékonyságot eredményezett, hasonlóan az alkiltiolátoknál tapasztaltakhoz.



3. Ábra. Réz elektród log |j| - E polarizációs görbéi (0,1 M Na₂SO₄; pH=3,5). (— kontrol, réz réteg nélkül, — C18N LB egyréteg a réz felületen, - - - C16N LB egyréteg a réz felületen, —○— C18N SAM réteg a réz felületen, —□— C16N SAM réteg a réz felületen, —Δ— C12N SAM réteg a réz felületen)

Összefoglalás

A kétféle eljárással kialakított réteggel védett rézfelületekről különböző módszerekkel kapott vizsgálati eredmények összehasonlításával megállapítottuk, hogy a réz korróziója az alkil hidroxámsavakból létrehozott molekuláris filmekkel jelentősen gátolható. A rétegek hatékonyságát a molekulában lévő szénatomszám és az LB filmet alkotó rétegszám befolyásolja. A hidrofób molekuláris rész és a molekuláris rétegszám növekedése az antikorróziós hatást jelentősen fokozza. Az önszerveződött filmek hatékonyabbak, mint az ugyanazon hidroxámsavból kialakított monomolekuláris LB rétegek.

Köszönetnyilvánítás

A szerzők köszönik az OTKA támogatását (sz.T 035122).

Hivatkozások

- Ma, H. Y.; Yang, C.; Yin, B. S. *Appl. Surf. Sci.* **2003**, *218*, 143-153.
- Sinapi, F.; Forget, L.; Delhalle, J.; Mekhalit, Z. *Appl. Surf. Sci.* **2003**, *212*, 464-471.
- Laibinis, P. E.; Whitesides, G. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 9022-9028.
- Yamamoto, Y.; Nishihara, H.; Aramaki, K. *J. Electrochem. Soc.* **1993**, *140*, 436-443.
- Volmer-Uebing, M.; Reynders, B.; Stratmann, M. *Werkst. Korros.* **1991**, *42*, 19.
- Nozawa, K.; Nishihara, H.; Aramaki, K. *Corros. Sci.* **1997**, *39*, 1625-1639.
- Jennings, G.K.; Munro, J.C.; Yong, T.H.; Laibinis, P.E. *Langmuir* **1998**, *14*, 6130-6139.
- Xing, L. W.; Shan, Y.; Gou, D.; Lu, T.; Xi, S.; *Corrosion* **1995**, *51*, 45.
- Aramaki, K. *Corros. Sci.* **2003**, *45*, 2639-2655.
- Gao, W.; Dickinson, L.; Grozinger, C.; Morin, F.G.; Reven, L. *Langmuir* **1997**, *13*, 115-118.
- Gao, W.; Reven, L. *Langmuir* **1995**, *11*, 1860-1863.
- Aramaki, K.; Shimura, T. *Corros. Sci.* **2004**, *46*, 313-328.
- Marek, M.; Szeles, C.; Süvegh, K.; Kiss, É.; Vértess, A.; Lynn, K.G. *Langmuir* **1999**, *15*, 8189-8196.
- Mohai, M.; Kiss, É.; Tóth, A.; Szalma, J.; Bertóti, I. *Surface and Interface Analysis* **2002**, *34*, 772-776.
- Allara, D.L.; Nuzzo, R.G. *Langmuir* **1985**, *1*, 45-52.
- Schlotter, N.E.; Porter, M.D.; Bright, T.B.; Allara, D.L. *Chem. Phys. Lett.* **1986**, *132*, 93-98.
- Thoughton, E. B.; Bain, C. D.; Whitesides, G. M.; Nuzzo, R. G.; Allara, D. L.; Porter, M. D. *Langmuir* **1988**, *4*, 365-385.
- Laibinis, P. E.; Whitesides, G. M.; Allara, D. L.; Tao, Y.-T.; Parikh, A. N.; Nuzzo, R. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 7152-7167.
- Bram, C.; Jung, C.; Stratmann, M.; Fresenius *J. Anal. Chem.* **1997**, *358*, 108.
- Van Alsten, J. G. *Langmuir* **1999**, *15*, 7605-7614.
- Felhösi, I.; Telegdi, J.; Pálkás, G.; Kálmán, E. *Electrochim. Acta* **2002**, *47*, 2335-2340.
- Wolpers, M.; Stratmann, M.; Viefhaus, H.; Streckel, H. *Thin Solid Films* **1992**, *210-211*, 592-596.
- Wolpers, M.; Reynders, B.; Volmer, M.; Stratmann, M. in Proc. 11th Int. Corrosion Congress on 'Innovation and technology transfer for corrosion control' Milan, Italy, Publ.Assoc. Italiano Di Metallurgia **1990**, Vol. 2., 2.176.
- Sonnenschein, M. F.; Cheatham, C. M. *Langmuir* **2003**, *18*, 3578-3584.
- Folkers, J. P.; Gorman, C. B.; Laibinis, P. E.; Buchholz, S.; Whitesides, G. M. *Langmuir* **1995**, *11*, 813-824.
- Meucci, S.; Gabrielli, Ch. B.; Caminati, G. *Mater. Sci. Eng. C.* **1999**, *8-9*, 135-143.
- Shaban, A.; Kálmán, E.; Telegdi, J. *Electrochim. Acta* **1998**, *43*, 159-163.

Inhibition of copper corrosion by molecular nanolayer coatings

Copper surfaces modified by hydroxamic acid amphiphilics were investigated in NaCl/Na₂SO₄ solution by surface visualization and electrochemical methods. Results of the atomic force microscopy and the polarization measurements show that the anticorrosion activity increases by increasing hydrophobicity of the molecules (i.e. with increasing number of carbon atoms in the alkyl side chain) and by

increasing layer number in the LB film. The rate of pitting and general corrosion is lower in the presence of LB and SAM molecular films than without them. The efficiency of the same amphiphile in LB and SAM layers are different. The self-organization of the alkyl hydroxamic acid molecules can better control and diminish the corrosion processes of the copper than the LB film

Az NMR-SZTORI

Sohár Pál az MTA levelező tagja

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Általános és Szervetlen Kémiai Tanszék

MTA–ELTE Spektroszkópiai Szerkezetkutató Csoport

sohar@para.chem.elte.hu.

Az NMR-spektroszkópia napjaink legelterjedtebb, a természet-tudományok minden területén nélkülözhetetlen, rendkívül sokoldalúan alkalmazható, hihetetlen gyorsasággal fejlődő és terjedő, leghatékonyabb nagyműszeres szerkezetkutatási módszere. Óriási jelentőségű mind az elméleti, mind a gyakorlati tudományok terén, új dimenziókat nyitott a kémiai szerkezetkutatásban, a biológiai folyamatok felderítésében és az orvos-diagnosztikában. Alig 80 éves múltja telve van fényes diadalokkal, kudarcokkal, váratlan fordulatokkal, miközben ellentétben a társ műszeres módszerek meglehetősen sablonos karrier-történetével, melynek során a harsány címeiből előbb csak a címoldalra, majd fokozatosan a cikk-szövegek egyre eldugottabb részeibe csúsznak le, hogy végül kikössenek a kísérleti részek kötelező adathalmazában, az NMR újra és újra visszahódította a közfigyelmet, s a lelkesedés kihunyó tüzének hamvaiból feltámadva ismételt az érdeklődés gyűjtőpontjába sikerült kerülnie.

Amidőn a magrezonancia-jelenség létezésének lehetősége felmerült, senki sem gondolta volna, hogy ezzel a tudományban példanélküli siker-története veszi kezdetét. Két évtizeden át az NMR-téma az elméleti fizikusok „belügye” maradt és kísérleti igazolásától nem vártak többet annál, minthogy igazoljon egy-két csupán elméleti érdekességű kvantumelméleti feltételezést. E korszak végén általános volt a vélemény, hogy a magrezonancia-kísérletek kudarcra vannak ítélve, „az NMR halott”, nincs jövője, nincsenek alkalmazási lehetőségei. A mérés-technika, s vele az NMR-elmélet párhuzamos fejlődésével aztán feltárult a páratlanul gazdag alkalmazások perspektívája, az ötvenes években először csak a kémia, majd egy-egy évtized elteltével sorra a biológia, az orvostudomány, s az összes többi természettudomány számára is.

A mindent útjára indító ötlet *Pauli*tól származik, aki elektronspektrumok hiperfinom szerkezetéből 1924-ben jutott arra következtetésre, hogy – hasonlóan az elektronokhoz, amelyekről ezt ekkor már tudták (*Compton*, 1921) – az atommagoknak is van – *kell legyen* – impulzus, s ezzel mágneses momentuma. *Goudsmit* és *Uhlenbeck* ennek elméleti okát is felismerték (1921), *Stern* és *Gerlach* híres kísérletei pedig 1924-ben igazolták, hogy az elektronok impulzus- és mágneses momentuma kvantáltak. Kézenfekvő volt ekként az a *Denissontól* származó további feltételezés (1927), hogy a magmomentumok is kvantáltak, amit alkalmas rezonancia-kísérletekkel lehet bizonyítani.

A mágneses momentum, a *spin* úgy képzelendő el, mint egy parányi iránytű, amely, ha mágneses térbe kerül, beáll a tér irányába, pontosabban kvantáltsága azt jelenti, hogy a külső térrel olyan szöget zár be, hogy vetülete meghatározott nagyságú legyen, γ egész vagy fél-egész számú többszöröse: $m\gamma$, ahol γ az un. giromágneses tényező az

egyes atommagokra jellemző, m futó szám, maximuma I , a spin-kvantumszám és nagysága az $I, I-1, \dots, -I$, összesen $2I+1$ értéket veheti fel. A legegyszerűbb esetben, pl. a hidrogénre is, $I = \frac{1}{2}$, s ekkor két kvantumállapot van az $m = \frac{1}{2}$ és $m = -\frac{1}{2}$ értékeknek megfelelően, ahol a két m -érték a momentum vetület külső térhez viszonyított parallel vagy ellentétes beállásának felel meg. Ha a magmomentumot egy kis nyíl (vektornak) tekintjük, akkor a rezonancia nem jelent mást, minthogy a nyíl az egyik lehetséges beállásból átbillen a másikba, vagyis a mag mágneses momentumának a külső mágneses térhez viszonyított beállása változik meg, s más nem történik. Az ehhez szükséges energia a rádiófrekvenciás sugárzás elnyeléséből származik és a megfelelő frekvenciát, az egyes magokra elérő un. Larmor-frekvenciát, amely a külső térrel arányos szelektíven, rezonancia-szerűen nyelik el az egyes atommagok. Az NMR-kísérlethez tehát két mágneses tér szükséges: az első un. polarizáló tér a mágneses kvantumállapotok létrejöttéhez (a spinek e külső térhez viszonyított orientációjához), a második, az un. gerjesztő tér a kvantumállapotok közötti átmenetek előidézéséhez (a spin-beállások megváltoztatásához) szükséges.

Néhány, a kvantumelmélet iránt érdeklődő kísérleti fizikus nyomában nekilátott a magrezonancia kísérleti megvalósításának, bár a roppant kis rezonancia-energiák miatt, a mérés-technika akkori szintjén, a kitűzött cél hihetetlenül nehéz feladat elé állította a kutatókat. De talán éppen ez jelentette a téma vonzerejét, felkeltve a kutatói becsvágyat. E korszak tragikus figurája egy *Gorter* nevű amerikai kutató, aki egész kutatói pályafutását a magrezonancia kimutatásának szentelte, egész életét erre tette fel és minden próbálkozása majd két évtizeden át sikertelen maradt. A kudarc oka, hogy balszerencsésen rossz atommagot, a ^7Li izotópot választotta kísérleteihez, abból a megfontolásból kiindulva, hogy a nagy természetes előfordulás (93 %) és spin-kvantumszám ($3/2$) nagyobb mágneses momentumot, s ezzel rezonancia-energiát eredményez, amely nagy energia elnyelését könnyebb lesz kimutatni. A felesnél nagyobb spin-kvantumszám-mal járó elektromos kvadrupól-momentum, s az ennek következtében igen rövid spin-rács relaxáció azonban gonosz tréfát űzött a balszerencsés kutatóval, megfosztva őt a magrezonancia bizonyításának dicsőségétől.

Közben más irányban is folyt a Pauli-hipotézis igazolását célzó kutatómunka. Atomsugarakkal végzett kísérletekkel *Rabi* és munkatársai az Egyesült Államokban, 1939-ben sikerrel határozták meg néhány atommag mágneses momentumának nagyságát, s velük egy időben, hazánkban is elindultak *Simonyi Károly* kezdeményezésére hasonló és eredményes kísérletek. Büszkén mondhatjuk tehát, hogy az NMR-spektroszkópia úttörői közt ott találjuk a magyar fizikusokat is, s a hazai kutatások ez idő tájt a nemzetközi élvonalhoz tartoztak.

A sikeres NMR-kísérletek előhírnökeként 1944-ben Zawoisky kimutatta az elektronspin-rezonanciát, létrehozva ezzel az ESR-spektroszkópiát. Igaz ugyan, hogy az elektronok három nagyságrenddel nagyobb mágneses momentumának rezonanciáját megfigyelni mérés technikailag sokkal könnyebb feladat, de ez az eredmény bizonyára mégis új lendületet adhatott az NMR-kutatásoknak is.

Ami nem sikerült Gorternak, azt 1945-ben két kutatócsoport is megvalósította: Bloch és munkatársai a Stanford egyetemen, Purcell és kutatócsoportja a Harvard egyetemen végrehajtották az első sikeres magrezonancia kísérleteket. Mindkét csoport a hidrogénmagon, Blochék a vízmolekulán, Purcell és csapata a paraffin hidrogénjein figyelte meg a rádiófrekvenciás sugárzás szelektív elnyelését. Szerencsés kézzel az NMR kísérletben legérzékenyebb hidrogénmaghoz nyúltak, s külső körülmények is hozzásegítették őket a sikerhez.

A háborús célú radar-kutatásokra nem sajnálták a pénzt, melyből aztán jutott a rádiófrekvenciákkal végzett elméleti célú tudományos vizsgálatokra is. A háborús körülmények más módon is segítettek az NMR-témán munkálkodó kutatókat: a sikeres rezonancia-kísérletek végrehajtásának esszenciális feltétele volt a laboratóriumi hőmérséklet stabilitása. Légkondicionálás akkoriban még nem volt, de a légítámadások elől óvóhelyekre, földalatti betonbunkerokba kényszerült kutatólaborokban a hőmérséklet stabilitás adva volt.

Bloch és Purcell 1952-ben Nobel-díjat kapott a magrezonancia első sikeres kimutatásáért, s így ők lettek az NMR-spektroszkópia első Nobel-díjasai.

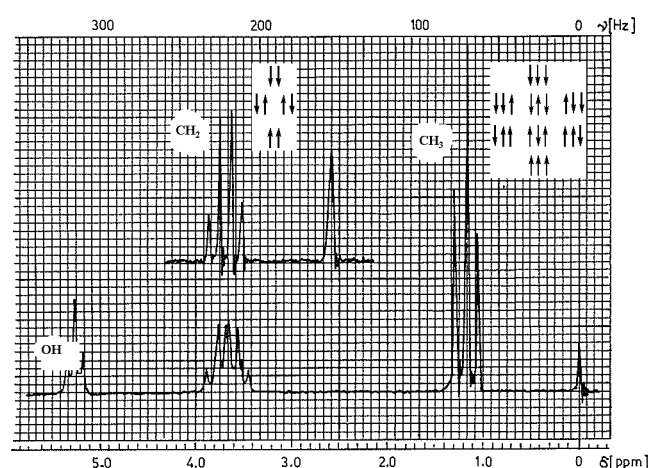
A fizikusok eredetileg kizárólag kvantumelméleti hipotézisek igazolására végeztek NMR-kísérleteket, gyakorlati alkalmazásokra senki sem gondolt. E teljesen elvont – ma úgy mondanánk tisztán alap- – kutatásokból nőtt ki napjaink legszélesebb körben hasznosítható műszeres vizsgálati módszere!

Az egyes atommagok mágneses momentumának pontosabb mérése érdekében a kutatók a mágneses térerősség és a mérési precizitás növelésére összpontosítottak. Ennek köszönhetően 1949-ben Knight észrevette, hogy ugyanaz a fématom különböző anyagokban, kissé eltérő frekvenciájú rádiósugárzást nyel el, s a következő évben sorra más atommagokkal kapcsolatban is ezt tapasztalták: Proctor és Yu a ^{14}N , Dickinson a ^{19}F , Lindström és Thomas a hidrogén mágna mért eltérő rezonancia-frekvenciát e magokat tartalmazó különböző vegyületekre. Proctor és Yu az ammónium-nitrát N-NMR-spektrumában nagyon közel egymáshoz két azonos intenzitású jelet észlelt, amelyek frekvenciája a külső mágneses térhez viszonyítva több nagyságrenddel kisebb értékkel különbözött, de elegendő felbontás esetén jól elvártak egymástól. Az azonos intenzitás miatt nem lehetett szó arról, hogy a két jel a ^{14}N - és ^{15}N -izotópoktól származzon, nyilvánvaló volt tehát, hogy az anionban lévő és kationbeli nitrogénhez tartozik a két jel. Egy évvel később, 1951-ben az is kiderült, hogy ugyanannak az atommagnak, ugyanabban a molekulában is más-más rezonancia-frekvenciája van, ha eltérő kémiai környezetben fordul elő. Arnold, Dharmatti és Packard közölték az etanol

egy olyan felbontással készült hidrogén-rezonancia- (H-NMR-) spektrumát, amelyben a metil-, metilén- és hidroxilcsoportok hidrogénjei külön jelet adtak. A spektrumból az is kiderült, hogy a jelek intenzitása arányos az értük felelős magok számával, vagyis az NMR-spektrumból megkapható a különböző kémiai környezetben előforduló azonosfajta magok relatív száma is.

Azt a jelenséget, hogy a kémiai környezet, ha csak igen kis mértékben is, a külső mágneses tér milliomod részével, ppm-ben mérhetően, befolyásolja a rezonancia-frekvenciát, kémiai eltolódásnak nevezzük. Ám ha a kémiai környezet hat a rezonanciafrekvenciára, akkor ennek fordítottja is igaz: pontos mértéke informál a kémiai szerkezetről. Ez a felismerés indította el diadalutját az NMR-t a kémiában: a kémikusok felfedezték maguknak az NMR-módszert, mint a szerkezetkutatás leghatékonyabb eszközét. Az NMR, mint egy az elektronmikroszkópnál sok nagyságrenddel nagyobb teljesítményű nagyító, betekintést enged a molekulák világába.

A kémiai eltolódás a kémiai szerkezetről nyerhető információk egyik leggazdagabb tárházát jelenti, de korántsem az egyedüli adatfajta, amivel az NMR segítheti a szerkezetkutatót. Már a legegyszerűbb molekulák H-NMR spektrumából kitűnt, hogy a kémiai eltolódás-konceptióval nem magyarázható meg mindig ezek szerkezete. Proctor és Yu a nátrium-hexafluoro-antimonát ^{121}Sb -spektrumában a várt egyetlen maximum helyett egy feltűnően szimmetrikus szerkezetű, hét vonalból álló multiplettet talált, amelynek vonalai ekvidisztánsak, s intenzitásuk a binomiális együtthatóknak megfelelő arányú. Hahn és Gutowsky ezt azzal magyarázta (1951), hogy a spinek „érzik” szomszédaik kvantumállapotát, vagyis a szomszéd alap- vagy gerjesztett állapota eltérően hat a partnere körüli lokális mágneses tér nagyságára, s ezzel a rezonancia-frekvenciára. Tehát a szomszéd kétféle kvantumállapota a partner két eltérő rezonancia frekvenciáját okozza: ennek jele két vonalra hasad.



1. Ábra. A 96 %-os és absz. etanol ^1H -NMR spektruma és a lehetséges spin-beállítások két, illetve három spinre

Az etanol nagyfelbontású H-NMR spektrumában (1. ábra) a metil-jel 1:2:1 triplette, a metilén-jel 1:3:3:1 intenzitásarányú kvartetté hasad fel, míg az OH-jel széles elnyelési maximumként külön jelentkezik a két multiplett között. Az

OH-hidrogén tehát nem okoz felhasadást, aminek okáról még szó lesz. A metil-jel triplétt szerkezete a két metilén-H kvantumállapotának függvénye: a szélső vonalak a két szomszéd spin azonos, alap- vagy gerjesztett állapotával kapcsolatosak, a középső, tehát a spin-spin kölcsönhatás nélkülivel azonos kémiai eltolódásnál jelentkező vonal a két spin ellentétes beállításának felel meg. A spin-állapotok okozta frekvencia-változások ugyanis kompenzálódnak, a kétszeres intenzitás a kétszeres statisztikus súllyal indokolható (az első vagy második spin egyaránt lehet alap, a pár pedig gerjesztett állapotban). A metilén-jel felhasadása a három metil-hidrogén spin-állapotok közötti lehetséges megoszlásait tükrözi: lehet mindhárom vagy alap-, vagy gerjesztett állapotú (szélső vonalak), lehet kettő alap és egy gerjesztett, vagy fordítva: egy alap- és kettő gerjesztett állapotban, s ez utóbbi két esetnek háromszorosa a statisztikus súlya, aszerint, hogy az első, második vagy harmadik H atom ellentétes spinű a másik kettőhöz képest. Tehát a jól elkülönülő jelek száma és intenzitásaránya a kémiai eltolódás-konceptió-nak megfelelő, de egyes jelek egymáshoz közeli vonalakra hasadva multiplett-ként jelentkeznek. A vonaltávolság az un. *csatolási állandó*, amelyről kiderült, hogy rendkívül érzékeny a csatoló spinek kölcsönös térbeli helyzetére. Ekként a csatolási állandó kulcsinformáció a molekulák háromdimenziós szerkezetét illetően, s ennek köszönhető, hogy az NMR-spektroszkópia a sztereokémiai kutatások legfontosabb eszközévé vált.

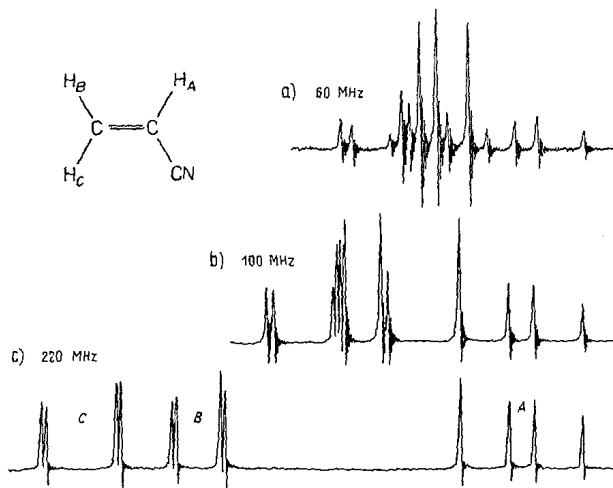
A felbontás és télerősség növelésének eredeti célja a mágneses momentumok pontosabb mérése volt, s a kémia eltolódás és spin-spin csatolás felfedezése, s ez által az NMR kémiabeli gyakorlati alkalmazhatóságának felismerése lett belőle!

Már a legegyszerűbb molekulák körében is akadtak olyanok, amelyek multiplettjei az előbbieken ismertetett egyszerű, szimmetrikus multiplettek, az un. elsőrendű vagy gyenge spin-spin csatolásoknak megfelelőek helyett sokkal bonyolultabb, teljen aszimmetrikus spektrumot adnak, amelyekből nem kaphatók meg egyszerűen a szerkezet-felderítés számára perdöntő paraméterek, kémiai eltolódások és csatolási állandók. Ilyen erősen csatolt rendszerek spektrumainak értelmezéséhez elkerülhetetlen az NMR-spektroszkópia kvantummechanikai elméletének ismerete, amely megadja azokat a számítási módszereket, formulákat, melyekkel a spektrumparaméterek kiszámíthatók. Itt jegyzem meg, hogy az első sikeres NMR-mérések egyik végrehajtója *Felix Bloch* az NMR kvantumelmélet kidolgozásában is főszerepet játszott, lefektetve e tudományág alapjait. Az elméletből következik, hogy a bonyolult, csak számításokkal megfejtethető spektrumok leegyszerűsíthetők a gyengén csatolt rendszerekre jellemző szimmetrikus multiplettekből felépülőkké, nagyobb külső mágneses tér alkalmazásával.

Ezt az akril-nitril példája szemlélteti, amelynek H-NMR spektruma 60 MHz-en bonyolult, áttekinthetetlen aszimmetrikus jelrendszer, 100 MHz-en egy hidrogén jele már elkülönül, 220 MHz-en pedig mindhárom hidrogén jele külön jelentkezik, s közel áll a gyenge csatolásnak megfelelő egyszerű szerkezethez, melyből a spektrumparaméterek számítások nélkül kiolvashatók (2. ábra).

A csatolási állandó tehát a molekulák térszerkezete szempontjából alapvető fontosságú információk hordozója,

de ugyanakkor bonyolítja is, van mikor lehetetlenné teszi a spektrumok értelmezését. *Anderson és Freeman* 1961-ben leírták a módszert, amellyel e nehézség áthidalható. Ez az un. kettős-rezonancia, amely az első volt a szokásos spektrumok felvételét kiegészítő mérési módszerek sorában. Ezeknek ma már egész arzenálja gazdagítja a kutatások NMR-fegyvertárát.



2. Ábra. Az akril-nitril ^1H -NMR spektruma 60, 100 és 220 MHz-en.

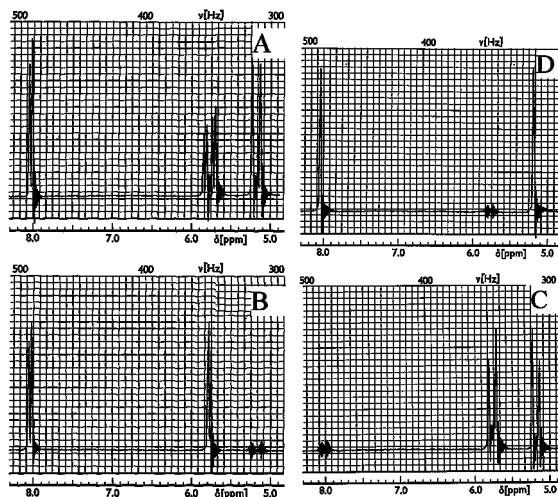
A kísérlet lényege, hogy a normál-felvételknél alkalmazott gerjesztő tér mellett, amellyel az eltérő kémiai eltolódású magok rezonanciáját idézzük elő, egy második gerjesztő teret is alkalmazunk. Az egymással csatolt spinek egyikét folyamatosan gerjesztve felgyorsulnak az ellentétes, a gerjesztési energiát a környezetnek átadó un. relaxációs folyamatok, melynek során alapállapotba jut vissza a gerjesztett mag. Ily módon a spinek kvantumállapota gyorsan változik, a gerjesztett állapot élettartama lerövidül és a szomszéd spin nem képes követni a gyors változást: a kölcsönhatás okozta felhasadás eltűnik.

Szemléltetésül a 2-formil-3-brom-tiofén példája szolgálhat. A kénnel szomszédos hidrogén csatolódik mindkét további hidrogénnel, utóbbiak viszont egymással nem csatolódnak. Ez abból látszik, hogy a kén melletti hidrogén jele kettős dublett a kétféle csatolásnak megfelelően, míg a másik két jel csupán két-két vonalra hasad (3A. ábra). A kettősrezonancia-kísérletben a formil-hidrogénnel nem csatoló gyűrűs hidrogént gerjesztve, aminek következtében jele eltűnik a spektrumból, csak a másik két hidrogén közötti csatolás marad meg, s mindkét jel dublett (3B. ábra).

Hasonlóan a formil-hidrogént telítve a gyűrűs hidrogének egymás közötti csatolásának megfelelően mindkettő dublett jelet ad (3C. ábra). Ha azonban a mindkét partnerrel csatoló kénnel szomszédos magot visszük telítésbe, az egymással nem csatoló két további hidrogén jele egy vonallá egyszerűsödik (3D. ábra).

A kettősrezonanciának számos fajtája használatos. Ezek közül a legismertebbek az un. lecsatolás és szelektív változata, az un. tickling és INDOR módszerek, a hidrogének és szenek közti kölcsönhatást kiküszöbölő, s így vonalas spektrumokat eredményező szélessávú (broad band, BB-) lecsatolás, amely az egyszerűbb szerkezet mellett még tekintélyes

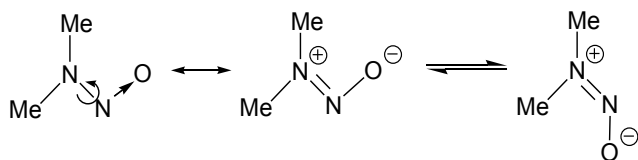
jel-zaj javulást is eredményez a C-NMR spektrumban. Ide sorolható az „off-rezonancia”-mérés, amellyel régebben adott vonalhoz tartozó szénatomok rendűségét határozták meg (ma már erre pulzusszekvenciák, az ún. DEPT és APT mérés használatos), s a mag Overhauser hatás (NOE), amely többek között a makromolekulákban az atom-atom távolságok igen pontos meghatározásának eszköze.



3. Ábra. A 2-formil-3-bróm-tiofén ^1H -NMR spektruma és a kettősrezonancia-spektrumok a H-4, formil-H és H-5 magokat lecsatolva

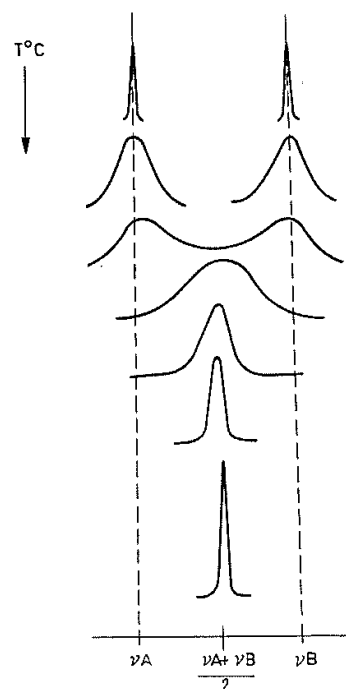
A kettősrezonancia-mérések egész sor további fontos információ forrásai: segítenek a jel-hozzárendelésben, az egymással kölcsönható spin-párok azonosításában, elfedett jelek kémiai eltoldásának pontos meghatározásában, elméleti kérdések tisztázásában (pl. csatolási állandók relatív előjelének meghatározásában, kvantumátmenetek asszignálásában, illetve term-nívó sorrendek megállapításában), stb.

Az N,N' -dimetil-nitrozamin ^1H -NMR spektrumában a két metil-csoport jele elkülönül. Ezt Gutowsky és Holm úgy magyarázta (1956), hogy az N–N kötés körül a polarizáció következtében gátolt rotáció miatt a két metil-csoport környezete különbözik: az egyik *cis*-, a másik *transz*-helyzetű az oxigénnel (1. képletábra).



1. képletábra

Feltevésüket a spektrum hőmérséklet-függő vizsgálatával igazolták. Melegítve az oldatot azt tapasztalták, hogy a két jel fokozatosan kiszélesedik, majd összeolvad, s végül egybeolvad az átlag kémiai eltolódásértéknél (4. ábra). Magasabb hőmérsékleten ugyanis felgyorsul a forgás az N–N kötés körül, s a környezetek átlagolódnak. A jel-összeolvadás hőmérsékletéből a termodinamika jól ismert Arrhenius és Eyring nevét viselő egyenleteivel a mozgás aktiválási paraméterei elegendő pontossággal és egyszerűen kiszámíthatók.



4. Ábra. Az N,N -dimetil-nitrozamin ^1H -NMR spektruma a hőmérséklet függvényében.

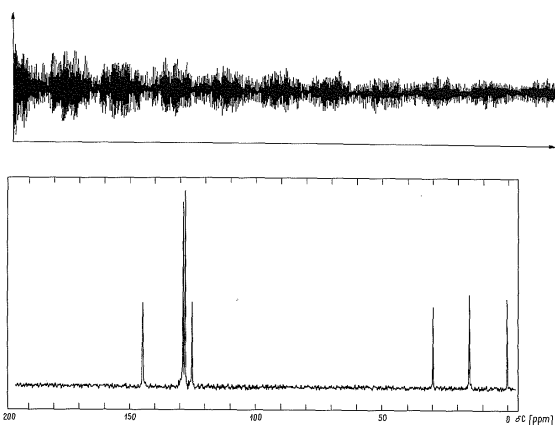
E kísérletek a dinamikus NMR - (D-NMR) spektroszkópia kezdetét jelentik. Az utóbbi területen elért eredmények bizonyították, hogy a belső molekuláris mozgások (atomi és gyűrűinverzió, rotáció, vegyérték-izoméria, tautoméria), valamint a csere folyamatok (ligand-csere, savanyú protonok intra- és intermolekuláris cseréje) vizsgálatának unikális eszköze az NMR-spektroszkópia.

Az NMR tehát sorra feltárta a kémiai szerkezet addig csak sejtett, vagy még csak nem is gyanított finomságait: a kémiai eltolódás rámutatott ugyanazon atom molekulán belüli sokféle lehetséges környezetének létezésére és megkülönböztetésük lehetőségére, a spin-spin csatolás három-dimenziósra tágította a molekulászerkezet fogalmát, a D-NMR életet lehelt az addig merevnek hitt, mozdulatlanságra kárhoztatott molekulákba. E sorozatos felismerések egyre tágították az NMR alkalmazásának perspektíváit, s a módszer egy-egy újabb diadalát, feltámadását, ismételt fókuszba kerülését eredményezték.

Valószínűleg kevesen tudják, hogy infravörös spektrumokkal kapcsolatban – Rayleigh és Michelson már a XIX. század végén felvetette a Fourier-transzformációs (FT-) spektroszkópia ötletét, azaz a spektrumjelek egyidejű detektálását, s az így nyert regisztrátum átalakítását a hagyományos frekvencia-függő alakba a Fourier-transzformáció segítségével. Fellgett 1951-ben írta le a róla elnevezett elvet, amely rámutat, hogy a spektrumjelek egyidejű detektálása a hagyományos egymás utáni „átsőprésés” (CW- – continuous wave – módszer) – regisztrálás helyett tekintélyes időnyereséggel jár, amely felhasználható a jel-zaj viszony javítására, az időnyereséget a spektrum ismételt felvételére fordítva, majd a mérési adatokat összegezve és FT-úton átlagolva.

A jelek egyidejű megfigyelésének a CW-technikával alternatív lehetőségére Bloch már 1946-ban felhívta a

figyelmet, *Hahn* és *Torrey* pedig alkalmazták is e pulzus-technikát un. tranziens jelenségek, relaxációs idők mérésére. A pulzus-gerjesztés szokásos frekvencia-függő spektrumok érzékenység javítására való felhasználását először csak 1966-ban javasolta *Ernst*, rámutatva, hogy ezt és a FT-technikát alkalmazva előállított (PFT-) spektrumok mintegy három nagyságrenddel javítják meg a CW-módszerrel addig elérhető érzékenységet. A pulzus igen rövid – mikroszekundum nagyságrendű – ideig hat a spinekre, s egyidejűleg gerjeszti az eltérő kémiai eltolódású magokat. A CW-eljárással sorra, egymás után gerjesztjük az eltérő frekvenciájú jeleket, a folytonosan jelenlévő elektromágneses sugárzás frekvenciáját folyamatosan változtatva (a teljes kémiai eltolódás-tartományt átsöpörve). Ily módon kapjuk a hagyományos spektrumot: az elnyelési maximumokat (mágnesezettséget) a frekvencia függvényében. A pulzusgerjesztéssel a mágnesezettséget az idő függvényében regisztráljuk (FID: free induction decay), s ezt kell transzformálni az FT-módszerrel a szokásos frekvenciafüggő spektrummá (5. ábra). Az érzékenységjavulás hozzáférhetővé tette az NMR számára az atommagok addig csak nehezen mérhető döntő többségét, s a hidrogén-rezonancia másfél évtizedes hegemoniáját felváltotta a multinukleáris NMR-korszak, megnyitva a lehetőséget szénrezonancia spektrumok rutinszerű, a H-NMR felvételekével azonos minőségű felvételére.



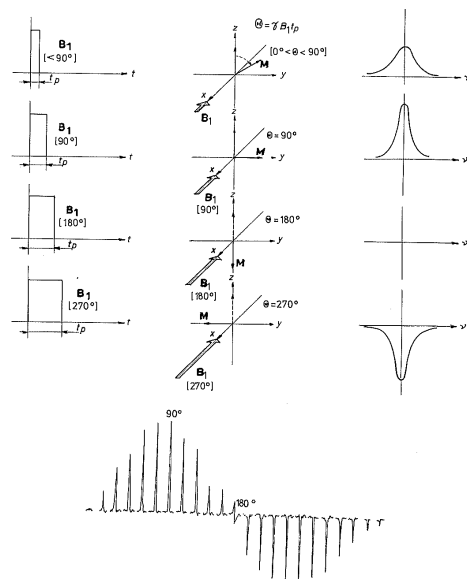
5. Ábra. Az etilbenzol ^{13}C -NMR spektruma és a FID.

A PFT-mérésétechnika és -elmélet kidolgozásáért *Ernst* 1991-ben elnyerte a Nobel-díjat.

Az NMR-beli PFT-technika kialakulásának története érzéketlenül példázza, hogy a tudomány fejlődésében miként termékenyítik meg egyik tudományágbeli eredmények egy más terület kutatásait, az ott már ismert és bevált elvek, módszerek adaptálása révén.

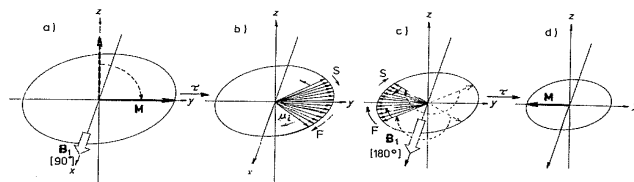
A spinek gerjesztése az egyedi mágneses momentumvektorok összegződésével makroszkopikus mágnesezettséget hoz létre, melynek regisztrálásával nyerjük az NMR-spektrumot. A pulzussal e vektort a külső mágneses térhez viszonyítva forgathatjuk, a kvantumállapotoknak megfelelő beállításokat változtatva átbillenthetjük egyik beállásból a másikba. Az elfordulás mértéke, illetve a billenésszög a pulzus élettartamával szabályozható (6. ábra). Ekként előre tervezett pulzusok sorozatával a mágnesezési vektor nagysága és iránya, s ezzel a regisztrált spektrum tetszés szerint változtatható. Alkalmas pulzus-szekvenciákkal

valósággal táncra perdíthetjük a spineket, ahogy ezt egy nemrég megjelent NMR-kézikönyv címe szellemesen kifejezi: „Spin Choreography” (*Freeman*, 1997).



6. Ábra. A pulzushossz változtatásának hatása a jelalakra és -intenzitásra.

Az elmúlt negyed század során a pulzusszekvenciák egész seregét dolgozták ki, melyek legtöbbje tisztavirág-életűnek bizonyult, s mindnek több változatát is leírták. Itt egyetlen példára kell szorítkoznunk, amely a legelső egyike, a legtöbb későbbi változat őseinek tekinthető, s talán valamennyi közül a legelegánsabb. *Hahn* 1950-ben publikálta „spin-echonak” keresztelt módszerét az un. spin-spin relaxációs idő mérésére (7. ábra).



7. Ábra. A spin-echo kísérlet: Hahn pulzus-szekvenciája.

A kísérlet első lépéseként a külső tér irányával egybeeső (z-irányú) mágnesezettségi vektort (mely az egyedi spinek eredője) az x-irányú pulzussal, 90° -kal, a detektálás y-irányába billentjük, majd egy időre (τ) magára hagyjuk. Ez alatt a különböző kémiai eltolódású spinek eltérő frekvenciával forogva, az xy-síkban szétszóródnak: a lassúbbak lemaradnak, a nagyobb frekvenciájúak előre sietnek. Ekkor egy újabb x-irányú 180° -os pulzussal ismét átbillentjük a spineket, amelyek folytatják a forgást, de úgy, hogy a lassúbb spinek pozíciót cserélnek a gyorsabbakkal és így „előre” kerülnek, a gyorsabbak pedig lemaradnak. A 180° -os pulzus tehát „utolsó pár előre fuss” játékra kényszeríti a spineket. Könnyen belátható, hogy ha e pulzus után ugyanannyi ideig várunk, mint előtte a 90° -os pulzust követően, s ekkor mérjük a jelet, az egyedi spin-vektorok eredője éppen maximális, mert a gyorsabb spinek behozták hátrányukat, míg a lassúbbak elvesztik a 180° -os pulzustól nyert előnyüket és valamennyi spin a mérés y-irányába kerül. Ez a spin-echo. Ha közben a spinek bármilyen változása következik be, akkor ez a változás,

függetlenül a kémiai eltolódásoktól tisztán megfigyelhető. Az eredeti *Hahn*-kísérletben pl. – a spin-spin relaxáció miatt – a mágneszettség nagysága az időben exponenciálisan csökken, s a kísérletet többször ismételve ez a jelintenzitás-változás detektálható az idő függvényében, amiből a folyamat sebessége kiszámítható.

Az NMR spektrumokból a legfontosabb paraméterek, a kémiai eltolódások, csatolási állandók és jelintenzitások mellett, további igen hasznos információk is nyerhetők. Közülük a fent említett spin-spin relaxációs idő (T_2) párja a T_1 spin-rács relaxációs idő az energiavesztés sebességét jellemzi, melynek során a spinek átadják a környezetnek (a „rács”-nak) a gerjesztési energiát. A T_1 mérése sokoldalúan hasznosítható adatok birtokába juttatja a kutatót: T_1 nagysága fontos az elmélet számára, segíthet hozzárendelési problémák megoldásában, keverék-komponensek, molekuláriszettek jeleinek szétválasztásában (pl. egy oligoszacharid egyes cukorkomponenseinek jeleit lehet így elkülöníteni), de összefügg a molekuláris kötésekben lévő atomok mozgékonyaságával is, s ezért kitűnően használható szegmens-mozgások tanulmányozására. Pl. egy hosszú láncú alifás alkohol szénatomjainak T_1 értéke a lánc mentén a funkció csoporttól távolodva fokozatosan nő. Ennek az az oka, hogy a hidroxil-csoportok hidrogénkötéseket létesítve rögzítik, mintegy lehorgonyozzák a lánc végét és a szén-szén kötések körüli konformációs (szegmens-) mozgás a hidroxil-csoporttól távolodva egyre szabadabbá válik, gyorsul. Ez pedig a T_1 érték növekedéséhez vezet. Így a T_1 értékeket mérve az egyes szén távolsága a hidroxil-csoporttól meghatározható. Ez az elve azon biológiai NMR-vizsgálatoknak, amelyek célja enzim-szubsztrát kölcsönhatások felderítése, mivel a T_1 értékek elárulják a kötődési helyeket az enzimben és/vagy a szubsztrátban.

T_1 -mérésen alapul az NMR orvos-diagnosztikai alkalmazhatósága, mert a malignáns sejtekben az élő szövetek ca. 80 %-át alkotó vízmolekulák hidrogénjeinek relaxációs ideje jellegzetesen eltér az egészséges sejtekben mértől. A T_1 értékeket egy adott térfogatban mérve és valamilyen módon (pl. raster-pontokkal) ábrázolva a vizsgált tárgyról, pl. szövetmintáról fantomképet készíthetünk, molekuláris szintű felbontással. Ez az MRI, az NMR-tomográfia alapelve.

Az előadás szűkre szabott keretében megpróbáltam az NMR spektroszkópia útjának legfontosabb állomásait felvázolni. E rövid visszatekintést lezárandó – csak felsorolásszerűen – szeretném számba venni azokat a momentumokat, amelyek a fizika, s a kémia után megnyitották az utat az NMR előtt a biológia és orvosi tudományok világa felé:

- ♦ *Bloch, Hahn és Torrey* felvetik a pulzusgerjesztés lehetőségét és megvalósítják (1946-1950).
- ♦ *Fellgett* rámutat az érzékenységszámítás lehetőségére a Fourier transzformáció alkalmazásával (1951). A spektrumjelek egyidejű gerjesztésével elérhető időnyereség felhasználása „spektrum-gyűjtésre”, majd FT-vel a jel-zaj viszony javítására: n spektrum összegzése \sqrt{n} -szeres érzékenység-javulást eredményez.
- ♦ A 60-as évek közepe táján a gyors, nagyteljesítmény csatlakoztatott számítógépek elterjedésével megnyílik a lehetőség a *Fellgett*-előny gyakorlati kiaknázására, az FT-spektroszkópia megvalósítására: CAT: computer average of transients.

- ♦ *Ernst* 1966-ban bevezeti a pulzusgerjesztés és a Fourier-transzformáció hasznosítását a hagyományos NMR-spektrumok felvételénél és kidolgozza a módszer elméleti alapjait, mérés technikai elveit.
- ♦ A 60-as végek végén megjelennek a szupravezető mágnesek és ezzel a mágneses térerősség növekedése, valamint a számítógépek teljesítmény javulása megnyitja az NMR multinukleáris korszakát: lehetővé válik a szénrezonancia-spektroszkópia rutinszerű alkalmazása.
- ♦ 1971-ben *Jeener* felveti a két-dimenziós NMR-spektroszkópia ötletét.
- ♦ *Ernst, Bax, Freeman* és sokan mások a következő évtizedben kifejlesztik a több gerjesztő tér függvényében mért 2D-, 3D- és MD-NMR spektrumok elméleti alapjait, s ezek, illetve a pulzusszekvenciák rutinszerű alkalmazásának technikáját.
- ♦ 1971-ben *Damadian* megvalósítja a heterogén makrominták nagyfelbontású NMR-vizsgálatát és felfedezi, hogy a beteg sejtek víz-molekuláiban megváltozik a hidrogén relaxációs sebessége. Ezzel megveti az NMR-tomográfia alapjait, felismeri az NMR felhasználhatóságát a diagnosztikában.
- ♦ 1973-1977: *Mansfield és Lauterbur* kidolgozzák az NMR-tomográfia finomabb mérés technikáját. (Orvosi Nobel-díj, 2003.)
- ♦ A 70-es évek közepétől, *Ernst, Jeener és Wütrich* kutatásaival az élen, kidolgozzák a mag-Overhauser-hatás (NOE) kétdimenziós változatának (NOESY) felhasználását atom-atom távolságok igen pontos meghatározására makromolekulákban, s közöttük biopolimerekben, fehérjékben és peptidekben. Ezekért a kutatásokért nyeri el *Wütrich* 2002-ben a Nobel-díjat.
- ♦ A 80-as években kialakulnak a két- és multidimenziós módszerek rutinszerű alkalmazásának, s a pulzus technikák tömeges felhasználásának technikai feltételei. Az NMR-vizsgálatok mindennapos részévé válnak többek között a COSY, DEPT, HMBC, HMQC-mérések.
- ♦ A 90-es években elterjednek az érzékenységszámítás, illetve nehezen hozzáférhető atomok mérését lehetővé tevő térgradiens-módszerek, a más technikákkal kombinált NMR-mérések (LC-NMR, MS-NMR, stb.). Az NMR az ipari minőségbiztosítás, a technológiai folyamatok kontrolljának mindennapos eszközévé válik, amihez hozzájárul egyebek közt a mérés-automatizálás, átfolyó küveták alkalmazása, az automatikus mintacsere, stb.

Az NMR-spektroszkópia napjainkban nélkülözhetetlen a természettudományok minden területén, a kutatásban és az iparban egyaránt. Fél évszázaddal az első kommersziális 60 MHz-es CW-műszerek elterjedése után alig akad egyetemi, akadémiai vagy ipari kutatólaboratórium, kórház, ahol ne működne egy vagy több NMR készülék. Évente tucatnyi NMR-tárgyú könyv, sok-ezer publikáció, adatgyűjtemény jelenik meg. A már említett fél tucat Nobel-díjason kívül, akik kimondottan NMR-kutatásokért kapták a kitüntetést, további 30 kémikus, fizikus és orvos Nobel-díjas van, akik maguk vélik úgy, hogy az elismerést olyan kutatásokért nyerték el, amelyekben döntő része volt az NMR-vizsgálatoknak.

Az NMR-spektroszkópia történetét, fejlődését, jelenlegi szerepét a tudományokban, s a gyakorlati életben lehetetlen az adott igen szűk keretek között akárcsak vázlatosan áttekinteni, de talán a néhány kiragadott mozzanat is elegendő, hogy fogalmat alkothassunk jelentőségéről, példátlan hatékonyságáról és a benne rejlő, további szinte határtalan lehetőségekről.

Összefoglalás

Az előadás bemutatja a mágneses magrezonancia (NMR) spektroszkópia nyolc évtizedes történetét, Pauli mindent elindító feltevésétől napjainkig, amikor az NMR-módszer a természettudományok valamennyi ágában, a tudományos alap kutatástól az ipari alkalmazásokig, minden területen nélkülözhetetlenné vált, s ma is a leggyorsabban fejlődő, leghatékonyabb, legsokoldalúbb szerkezetkutatási módszer, amely alapvető ismeretekkel gazdagította a kvantumfizikát, a kémiai molekulaszervezetről alkotott szemléletünket, a biológiai tudományt, döntően járul hozzá a legösszetettebb életfolyamatok megismeréséhez, s az orvosi diagnosztika és az ipari folyamat-ellenőrzés mindennapos segédeszközüvé vált. Címzavakra tömörített áttekintést

ad a rutinspektrumokból nyerhető spektrumparamétereiről (kémiai eltolódásokról és csatolási állandókról), a legelterjedtebb kiegészítő mérésekből nyerhető további információkról (pl. kettősrezonancia-, hőmérséklet-függő-, DEPT-, NOE- és különféle kétdimenziós vizsgálatokról, a relaxációs idők méréséről), s mindezek alkalmazási lehetőségeiről. Bemutatja, hogyan vált egyre sokoldalúbb, s egyre hatékonyabb kutatási eszközzé, s hogyan hatolt be, s hozott forradalmi változást sorra a fizikai, kémiai, biológiai és orvosi kutatások világában. Betekintést enged egy új tudományág váratlan fordulatokban gazdag, nagy sikerekkel és kudarccal járó, a kreatív gondolkodás diadalát dokumentáló történetébe,

Korszerű mérés technikák az NMR-ben

Batta Gyula, az MTA doktora

Debreceni Egyetem, OEC, Gyógyszerési Kémia Tanszék

MTA Antibiotikum-kémiai Kutatócsoport

batta@tigris.unideb.hu

Bevezetés

A „korszerű”, nagyfelbontású, folyadékfázisú NMR ¹⁻² módszerek idestova negyven éve, 1966-ban kezdődtek, az impulzus Fourier módszer R. R. Ernst által történt bevezetésével. De nem is biztos, hogy ez volt a kezdet, hiszen a Hahn féle csodálatos spin-visszhang és más impulzus kísérletek már az ötvenes évektől kezdve felbukkantak. Miután a kémiai eltolódást és a skaláris spin-spin csatolást (Gutowski) felfedezték, az NMR kémiai alkalmazásai igen vonzóknak tűntek. Azonban a széleskörű alkalmazásnak számos gyakorlati és elméleti problémája volt. A legnagyobb gond mindmáig az NMR viszonylagos érzéketlensége. Ennek az a magyarázata, hogy a magspinektől származó mágneseszettség viszonylag csekély pl. az elektron spinéhez képest. Ugyanis az erős, külső, állandó mágneses tér hatására létrejövő kollektív magspin-rendezettség ellen munkáló hőmérséklet hatására a térrel paralel orientált mágneses magok száma alig haladja meg az antiparalel helyzetűekét. Mivel az eredő mag-mágneseszettség ezzel a 10⁻⁶ nagyságrendű betöltöttség különbséggel arányos, nem meglepő, hogy a folyadékfázisú, szokásos hőmérsékletű mintáknál az érzékenység gyenge volt. A stabil, nagyterű, szupravezető mágnesek megjelenése az 1970-es években, majd a hűtött tekercsű mérőfejek bevezetése az ezredforduló környékén és az impulzus Fourier módszerben testet öltő paralel gerjesztés alkalmazása a szekvenciális (cw, folyamatos pásztázás) helyett, nagyságrendekkel javította az érzékenységet. A 70-es években csúcstechnológiának számító 80-100 MHz-es proton frekvenciájú spektrométerek mai testvérei már 7-900 MHz-en működnek. A nagyobb mágneses tér nem csak nagyobb érzékenységet, de jóval kedvezőbb spektrális felbontást is ad, hiszen ugyanazon ppm értékű kémiai eltolódás tartomány csaknem tízszeres frekvencia ablakban jelentkezik. Szerencsés módon a szupravezető technikával paralel fejlődött a rádiófrekvenciás elektronika és a számítástechnika is. Úgy tűnik, hogy az előbb felsorolt mérnöki tudományok és az NMR kísérleti és elméleti módszerfejlesztés kölcsönösen és gyümölcsözően befolyásolták egymást.

Mi áll az NMR módszerek permanens fejleszthetőségének hátterében a csúcstechnológiák beépítésén kívül? Hogyan lehetséges az, hogy a nyolcvanas évek legtöbbet idézett kémikusa egy NMR módszerfejlesztő, Ad Bax volt? Nem lehet véletlen, hogy az NMR felfedezéséért, kémiai alkalmazásáért majd a biomolekuláris kiterjesztésért eddig három alkalommal adtak Nobel díjat ! Nos, a titok nyitja abban áll, hogy az NMR spektroszkópia meglehetősen különbözik az elektromágneses színek tartomány más sávjaiba eső, illetve a részecske spektroszkópiák világától. Az NMR Zeeman átmenetek frekvenciái ugyanis a mért magtól és az állandó mágnes erősségétől függően a néhány MHz-

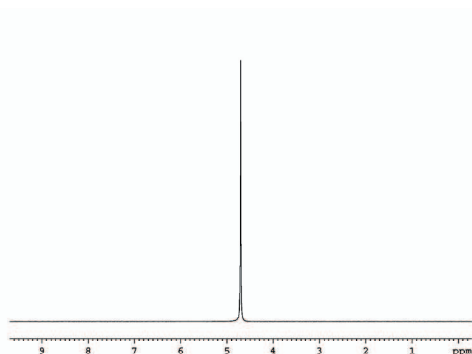
től a néhány 100 MHz-ig terjedő sávban találhatók. Ebben a rádióhullám sávban a spontán emisszió valószínűsége Einstein és a tapasztalatok szerint is elhanyagolható. A magspin rendszert az NMR átmeneti (Larmor) frekvencián alkalmazott rádióhullámmal lehet stimulálni. A gerjesztett magspinrendszer energiafeleslegétől a környezetével (amit tradicionálisan „rácsnak” neveznek) való energiacsere során szabadul meg. A spin-rács (vagy longitudinális, a B₀ térrel paralel) és a spin-spin (transzverzális) relaxáció sebessége – amivel a rendszer visszatér az egyensúlyi állapotba – valamilyen különös szerencse folytán a másodperc, a szívdobbanás periódusideje körüli tartományban van. E különös „szerencse” hátterében a molekulák oldatban történő rendezetlen Brown mozgása áll. Ez a mozgás stimulálja a relaxációs átmeneteket, s mivel a rotációs diffúzió számára nincsenek kitüntetett irányok, az egyébként erős, anizotróp kölcsönhatások (dipólus-dipólus ill. kémiai eltolódás anizotropia) kiátlagolódnak és nem szélesítik az NMR spektrum jeleit.

Nagy molekulákban a spin-spin relaxációs idő (T₂) rövid (10-100 ms nagyságrendű), míg egy kis oldószer molekulánál a T₁ és a T₂ akár 10-100 s is lehet. Kis molekuláknál a kétféle relaxációs idő gyakorlatilag megegyezik, nagy molekuláknál és szilárd anyagokban a spin rács relaxációs idő (T₁) jelentősen megnőhet. Igaz azonban, hogy a spin-spin relaxáció mindig gyorsabb a spin-rács relaxációnál, azaz T₂ < T₁. Az első NMR kísérletek kudarcát annak idején az okozta, hogy a vizsgált szilárd anyag T₁ relaxációs ideje túl hosszú volt és a kísérletek ismétlése közben a mágneseszettség nem tért vissza az egyensúlyi állapotba s emiatt a nívó populációk kiegyenlítődtek, s így a „telítés” miatt nem kaptak jelet. Ha a spin-spin relaxációs idők az optikai spektroszkópiákban szokásos gerjesztett állapotok élettartamának megfelelően skálázódnának, akkor az NMR spektrum vonalai használhatatlanul szélesek lennének, és elveszítenénk azt az előnyt, amit a homogén mágnesek 10⁻⁹-10⁻¹⁰ mértékű inhomogenitása megenged. E bevezetőt összegezve megkockáztathatjuk, hogy az NMR sikertörténet hátterében a kedvező relaxációs sajátságok állnak. A következőkben pedig megkíséreljük néhány példán keresztül illusztrálni a mai nagyfelbontású NMR teljesítőképességét és a mérések elvét.

Az NMR módszer teljesítőképessége

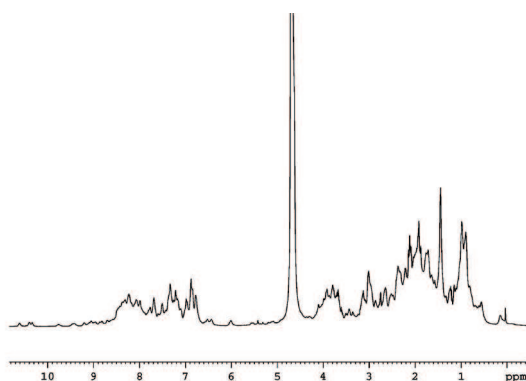
A folyadékfázisú NMR metodikai fejlesztések célja 40 év alatt mit sem változott: cél az érzékenység és a felbontás javítása. Az 1.a-b-c ábrák ezt a fejlődést jól demonstrálják. A ¹⁵N-¹³C jelzett calretinin I-II (CR I-II) fehérje ³1 mg-nyi mennyiségéből készült „sima” egydimenziós proton NMR

csak az oldószer jelét képes detektálni (1.a). NMR csak az oldószer jelét képes detektálni (1.a).



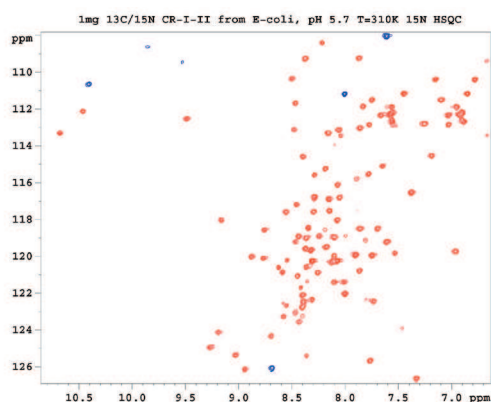
1a. Ábra. A calretinin (CR) I-II fehérje ^1H NMR spektruma vízelnyomás nélkül

A gradiens „WATERGATE” módszerrel elnyomható a kb. háromezeres erősebb H_2O ($\sim 100 \text{ M/L}$ ^1H koncentráció) jele és láthatóvá válnak a fehérje ($\sim 3 \times 10^{-4} \text{ M/L}$ koncentráció) ^1H -NMR jelei (1.b).



1b. Ábra. A CR I-II fehérje ^1H NMR spektruma vízelnyomással

A kétdimenziós ^1H - ^{15}N HSQC spektrumban (1.c) viszont csak az amid NH csoportok adnak jeleket.

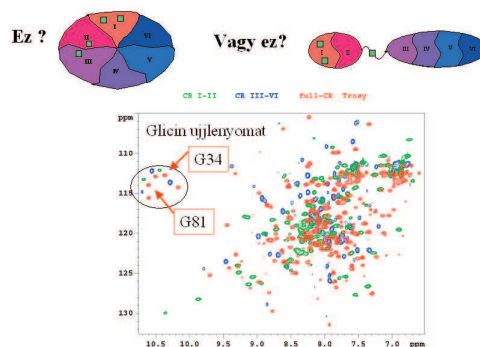


1c. Ábra. A CR I-II fehérje kétdimenziós ^1H - ^{15}N kémiai eltolódás korreláció (HSQC) NMR spektruma

A száz egységből álló fehérje spektrumában kb. száz pöttyöt

számolhatunk meg, ha az oldallánc NH_2 jelektől eltekintünk. Ezek a kereszt-csúcsok egy NH csoport ^1H és ^{15}N kémiai eltolódásait (ppm) rendelik egymáshoz. A félreértések elkerülése érdekében kiemeljük, hogy egy ilyen térkép önmagában még semmilyen geometriai jelentést sem hordoz. A röntgen-krisztallográfiai leképezéseknél közvetlenül kapunk molekula geometriát, ezért ott a jelhozzárendelési probléma fel sem merül. Az NMR szerkezetvizsgálat viszont a jelek azonosításával kezdődik, tehát esetünkben minden egyes pöttyre 1 és 100 közé eső számot kell írunk. Ennél a fehérjénél erre kb. $100!$ (faktoriális) $\sim 10^{157}$ lehetőség lenne, ami csillagászati szám. Szerencsére ezt nem találgatással és csak adatbankokra hivatkozva kell megtenni, hanem a molekula topológiájától függő célzott kísérletek sorozatával⁴. A jelhozzárendelés sok esetben szerkezetbizonyító erejű is, legalábbis a molekula konstitúcióját illetően.

Mire jók az előzőhöz hasonló 2D térképek? Pl. a teljes CR fehérje moduláris szerkezetét (a kis modul független a nagytól) három egymásra úsztatott spektrum már első ránézésre igazolja (2. ábra). A kicsi (I-II) modul és a nagyobbik (III-VI) modulok spektrumainak összege kiadja a teljes fehérje spektrumát (a modulok spektrumát ÉNy-i irányban eltoltuk a láthatóság kedvéért). Az ujjlenyomat glicin régió pedig pontosan azonosítja az öt Ca^{2+} kötő helyet. glicin régió pedig pontosan azonosítja az öt Ca^{2+} kötő helyet.



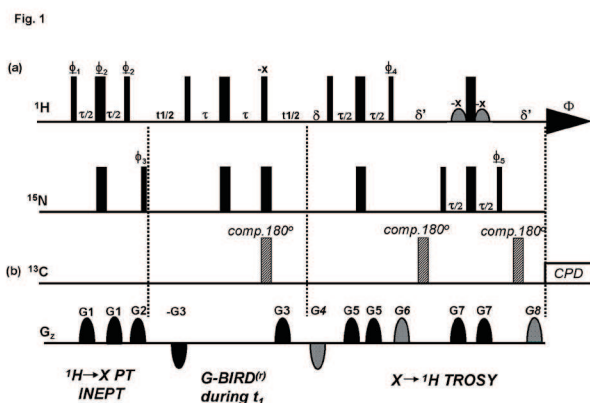
2. Ábra. A calretinin és a CR I-II, III-VI moduljainak egymásra rajzolt ^1H - ^{15}N TROSY és HSQC spektrumai. A modulok spektrumának összege nagyon hasonlít a teljes fehérje (kicsit elcsúsztatott) spektrumához, ami azt sugallja, hogy a modulok függetlenek egymástól.

Elmélet, dióhéjban

Hogyan készülnek a 2. ábrához hasonló 2D spektrumok? Egy-egy speciális NMR mérési módszer lényege egy rádiófrekvenciás túimpulzus sorozat, amelyet pontosan meghatározott idejű szünetek „darabolnak” (a 3. ábra pl. egy „TROSY”⁵ szekvenciát mutat).

A túimpulzus sorozat a módja a mágneszettségi információk szinte tetszőleges szerinti terelgetésének, amivel pl. a kémiai eltolódások kapcsolatát lehet követni. Megérthetők-e, tervezhetők-e a bonyolultnak tűnő kísérletek? A válasz igen, és a tervezéshez itt is a modulok használata segít. Az első „INEPT” modul, amely esetünkben az ^1H mágneszettséget viszi át a ^{15}N magokra, könnyen megérthetjük. Háromféle elméleti módszert használhatunk: a mágneszettségi

vektormodell (szemléletes), a szorzat-operátor modell (hatékony és szemléletes) ⁶ valamint a sűrűség-mátrix (egzak, de nem szemléletes) leírás.



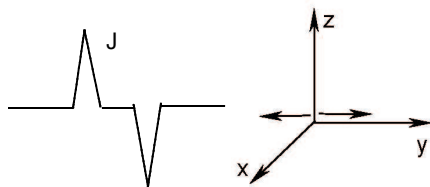
3. Ábra. A nagy móltömegű, duplán jelzett fehérjék vizsgálatára alkalmas ún. TROSY (Transverse Relaxation Optimized Spectroscopy) kísérlet egyik változata. A mérés a relaxációs interferencia vonalkeskenyítő hatásán alapul.

Képzeljünk el egy egyszerű két-spin rendszert, pl. a CHCl_3 molekula ^1H - ^{13}C (I és S spin) magjait. Az egyensúlyi, z-irányú proton mágnesezettséget egy x-irányú rádiófrekvenciás tüimpulzussal elforgatva y-irányú mágnesezettséget kapunk. Ez később ellenfázisú jellé is alakulhat, mert a dublett két komponense a frekvencia különbség miatt eltérő sebességgel precesszál az xy síkban.



Egyfázisú γ -mágnesezettség

$$\mathbf{I} \quad y = \frac{i}{2} \begin{bmatrix} 0 & 0 & -1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & -1 \\ 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 \end{bmatrix}$$



Ellenfázisú γ -mágnesezettség

$$2 \mathbf{I}_Y \mathbf{S}_Z = \frac{i}{2} \begin{bmatrix} 0 & 0 & -1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \\ 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & -1 & 0 & 0 \end{bmatrix}$$

Már ebben az egyszerű két-spin rendszerben is sokféle „mágnesezettség” képződhet a kísérletek során, amelyek a derékszögű szorzat operátorok formájában összesen 16 félék lehetnek, ha az egységmátrixot is hozzá vesszük. Ezek súlyozott összegével a rendszer pillanatnyi állapotára jellemző sűrűségmátrix felírható, amiből a mágneses jellemzők várható értéke is kiszámítható. A kísérletek követéséhez gyakran elegendő azonban az alábbi *szorzat operátorok változásának kiszámítása*: 1. a rádiófrekvenciás (RF) impulzus, 2. a δ kémiai eltolódás moduláció és 3. a J csatolási moduláció során. Az ezekre vonatkozó forgatási transzformációk egyszerűek, de itt nem részletezzük őket.

I_z és S_z longitudinális mágnesszettség

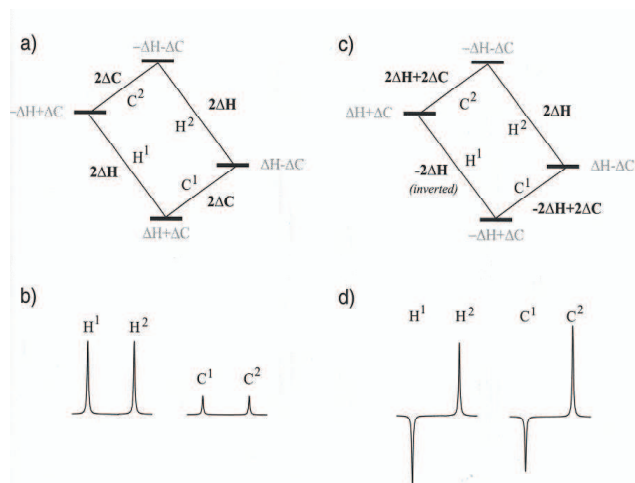
I_v, I_v, S_v , és S_v transzverzális (detektálható jel, $\Delta m = \pm 1$)

2I S nem Boltzmann-eloszlású, két-spin rend

$2I_{S_1} S_2, 2I_{S_2} S_1, 2S_{I_1} I_2, 2S_{I_2} I_1$ antifázisú (detektálható jel, $\Delta m = \pm 1$)

$$2I_{\vec{x}\vec{x}}, 2I_{\vec{x}\vec{y}}, 2I_{\vec{x}\vec{z}}, 2I_{\vec{y}\vec{y}}, 2I_{\vec{y}\vec{z}}, 2I_{\vec{z}\vec{z}} \text{ (nulla és két-kvantum rezgés, } \Delta m = 0, \pm 2)$$

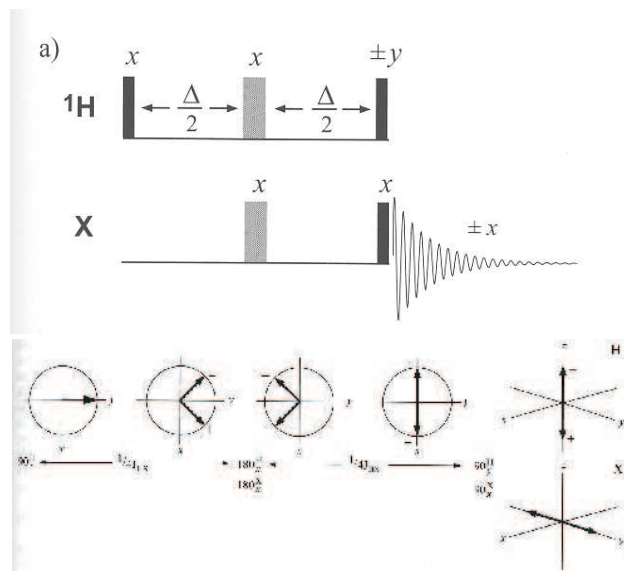
Hogyan megy át a protonok mágnesezettsége mondjuk a szén magokra? Ezt egy szelektív populáció átvitel (SPT) példáján mutatjuk be először. A 4. ábrán egy csatolt C-H spinrendszer Zeeman energiaszintjeit látjuk a nívók betöltöttségével együtt.



4. Ábra. A szelektív mágnesezettség átvitel (SPT) elve. Az egyensúlyi mágnesezettségénél kialakult populációkat az egyik ^1H átmenet invertálásával jelentősen meg lehet változtatni, ami a csatolt ^{13}C mag átmeneteit a kiindulási $+1 +1$ -hez képest $-3 +5$ intenzitására növeli.

Tudnunk kell, hogy egy adott NMR átmenet intenzitása az átmenethez tartozó energiaszintek populáció különbségével arányos. Egyensúlyi állapotban a proton átmenetekhez tartozó különbségek négyszer nagyobbak mint a szén átmenetekhez tartozók ($\Delta H \sim 4\Delta C$), mert a proton giromágneses tényezője is négyszer nagyobb. Ha most a proton dublett egyik mágnesezettségét kellően szelektív rádiófrekvenciás impulzussal a +z irányból a -z irányba forgatjuk, azaz invertáljuk, akkor a nívók betöltöttsége megváltozik. Mivel a két szén átmenetnek vannak közös nívói az invertált proton átmenettel, ezért az összekötött szintek betöltöttsége azonnal megváltozik. Az ábra alapján triviális számolással kapjuk, hogy az egyik szén átmenet mágnesezettsége -3, míg a másiké +5 lesz a kiindulási +1 +1 dublett helyett. A jel/zaj viszonyt tehát jelentősen növeltük, ráadásul a besugárzott proton jeléhez így megtalálhatjuk a

szomszédos szén jelét a ^{13}C -spektrumban is. G. Morris 1979-ben arra gondolt, hogy hasznos lenne az SPT kísérlet nem-szelektív változata is; ez lett a nevezetes INEPT (magyarítva: HATÁSTALAN) módszer. A valóságban a kétdimenziós NMR ötlete és 1976-os bevezetése után ez volt az egyik leghatásosabb új technika. Az 5. ábra a vektormodellel és a szorzatoperátorokkal is értelmezi a kísérlet lényegét.



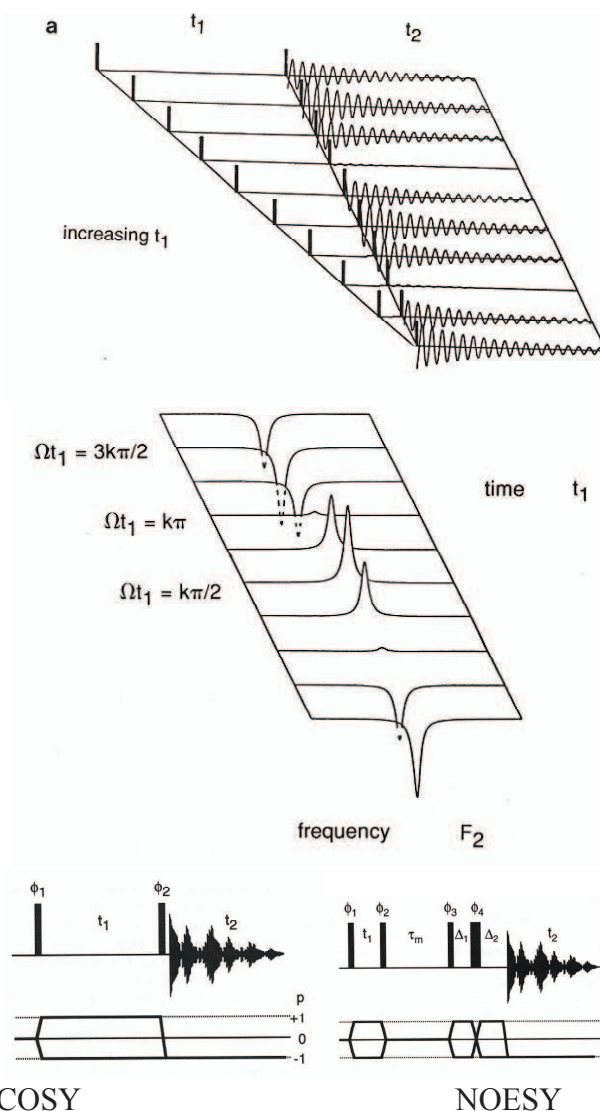
5. Ábra. Az INEPT, nem szelektív mágneszettség átvitel impulzus-sorozata, vektorábrája és szorzat-operátor értelmezése. A kísérletben ellenfázisú ^1H mágneszettségből ellenfázisú ^{13}C mágneszettség lesz.

Az INEPT esetében minden RF impulzus igen rövid időtartamú (kb. 10-20 μs) és így egyformán érinti a teljes spektrális ablakot, vagyis nem szelektív. Az első 90° -os ^1H impulzus az y irányba forgatja az ^1H dubletteket, majd a dublett két jele egymáshoz képest $\pm J/2$ frekvenciának megfelelő szögsebességgel távolodik egymástól az xy síkban. Ha $1/(4J)$ idő után egy $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ 180° -os impulzuspárt alkalmazunk, akkor a két mágneszettséget a másik félsíkba forgatjuk, ám a lassabb komponens most a gyorsabb lesz és fordíva. Így a két komponens tovább távolodik egymástól (folytatódik a „csatolási moduláció”), majd a spin-echo második $1/(4J)$ periódusa után a mágneszettséget x-irányú ellenfázisú ^1H jelként kaphatnánk. Ebben a pillanatban ezt az x-irányú mágneszettséget a z-irányba forgathatjuk egy y-irányú ^1H 90° -os impulzussal. Ekkor zz mágneszettséget, másnéven két-spin rendet kapunk. Ez a nemegyensúlyi mágneszettség nagyon hasonlít ahhoz a helyzethez, mint amikor az SPT kísérletben az ^1H dublett egyik felét invertáltuk. Az INEPT kísérlet végén a zz mágneszettséget egy ^{13}C 90° -os impulzussal ellenfázisú ^{13}C mágneszettséggé alakíthatjuk át. Ez a jel is nyer az eltérő giromágneses tényezők okozta jel/zaj növekményből, és detektálható is. Az NMR kísérletek nagy részében az információ átadás módja ehhez hasonlít. Az egyik mag ellenfázisú jelétől juthatunk a másik mag ellenfázisú jeléhez. Az INEPT a beépített spin-echo révén működhet igazán jól, ugyanis ennek jótékony hatása folytán a kapott jelek fázisa nem függ az ^1H magok kémiai eltolódásától. Az INEPT mérés „refókuszált” változatában adatgyűjtés alatt lehet protonlecsatolást alkalmazni, ha gondoskodunk

az ellenfázisú mágneszettség egyfázisúvá alakításáról. Ezzel a méréssel az eredeti ^{13}C dublettünk intenzitása egy nyolcszoros intenzitású szinglettben összegződik.

Újabb dimenziók - végtelen szelektivitás nem szelektív gerjesztésekkel

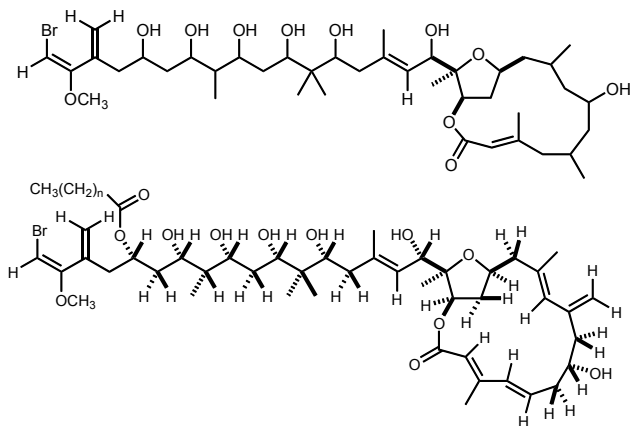
Az érzékenység tehát polarizáció átvitelével növelhető. Vajon a jelek diszperziója növelhető-e a mágneses tér erősségének növelése nélkül? A választ erre Jean Jeener belga fizikus adta meg 1971-ben, egy jugoszláviai NMR nyári iskolán. Az a zseniális ötlete támadt, hogy az impulzus kísérletekben a detektálási (valós) időn kívül újabb, indirekt idődimenziót lehetne bevezetni. A 6. ábrán láthatjuk az általa javasolt homonukleáris COSY és a későbbi NOESY kísérletet.



6. Ábra. A kétdimenziós mérések alapelve. A valós, t_2 időben detektált jelek a szisztematikusan inkrementált t_1 idő alatt is modulálódnak. Két, egymást követő Fourier-transzformációval mindkét tengely mentén frekvencia skálát kapunk. Az így nyert kontúrvonalas COSY térkép a kémiai kötések mentén való szomszédosságot, a NOESY pedig a térbeli közelséget állapítja meg a különböző magok között. A kísérletek szelektivitását csak a természetes vonalszélesség és a digitalizálás mértéke befolyásolja.

A második idődimenziót úgy lehet bevezetni, hogy a kísérletben egy időintervallumot kísérletről kísérletre, azonos időközökkel megnövelünk (a COSY esetében pl. a két egymást követő 90° -os ^1H impulzus közt eltelt időt). Az inkrementált t_1 idő alatt pl. a kémiai eltolódás modulálja a jeleket a t_1 idő függvényében, amit a t_2 valós idejű detektálás alatt mért interferogram (FID) is örököl. Ha először a valós idő szerint Fourier transzformáljuk a jeleket, akkor azt vehetjük észre, hogy az egymást követő spektrumokban a jelek fázisa vagy amplitúdója nem állandó, hanem a t_1 függvényében modulált. Ha ezeket a jeleket ezután t_1 szerint is (t_2 -re merőlegesen) Fourier transzformáljuk, akkor olyan kétdimenziós (2D) spektrumot kapunk, amelynek mindkét tengelye frekvencia dimenziójú. Az így nyert COSY térképről triviálisan leolvasható a magok kémiai kötés menti szomszédossága: a spin-spin csatolásban lévő magok kémiai eltolódásának megfelelő koordinátáknál észleljük az ún. „kereszt-csúcsokat”, kontúrvonalas ábrázolásban a „pöttyöket”. A 2D-NOESY kísérlet legalább még egy 90° -os ^1H impulzust tartalmaz, és az utolsó két impulzus közt beiktatott fix „ τ_m keverési idő” értékétől függően ad keresztcsúcsokat a térszomszédos protonok kémiai eltolódásainak megfelelő koordinátáknál. *A 2D kísérletek csodáját abban foglalhatjuk össze, hogy nem-szelektív gerjesztésekkel juthatunk – elvileg – végtelen szelektív információhoz.*

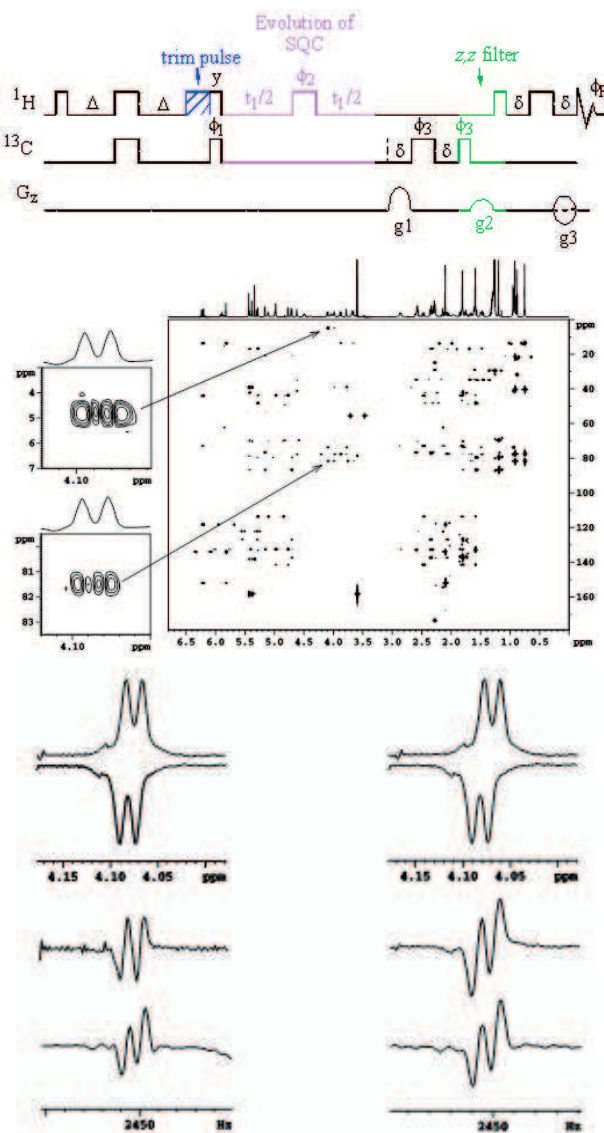
Első példaként most nem homonukleáris kísérletet – COSY, NOESY, stb. – hanem heteronukleárisat választunk. Még hozzá olyat, amelyik nem csak a skaláris csatolás meglétét jelzi, hanem annak értékét is kiadja. A távolható – kettő és háromkötéses – ^1H - ^{13}C spin-spin csatolások általában 10 Hz-nél kisebbek, de nagyon fontosak a természetes anyagok szerkezetfelfedezésénél. A phormidolide makrolid (7. ábra) esetén 11 királis centrum sztereokémiáját határozták meg⁷, többek között a HSQMBC (Heteronuclear Single Quantum Multiple Bond Correlation) módszerrel⁸.



7. Ábra. A „phormidolide” nevű makrolid természetes anyag.

A 8. ábra a mérési metodikát, a nyert 2D spektrumot és annak néhány metszetét mutatja. A HSQMBC a távolható csatolásokra optimált INEPT-tel kezdődik, a t_1 idő alatt kapunk ^{13}C kémiai eltolódás jelzést, majd az aktív csatolásnak megfelelő ellenfázisú szén mágnesszettséget alakítjuk vissza ellenfázisú proton mágnesszettséggé. Ez szuperponálódik az adagyűjtés alatt az egyfázisú proton multipletre. Ha szerencsés a csatolási kép, akkor közvetlenül leolvasható az $^nJ_{\text{CH}}$ heteronukleáris csatolás nagysága. Bonyolult ^1H multiplett esetén számítógépes illesztéssel kell próbálkoznunk.

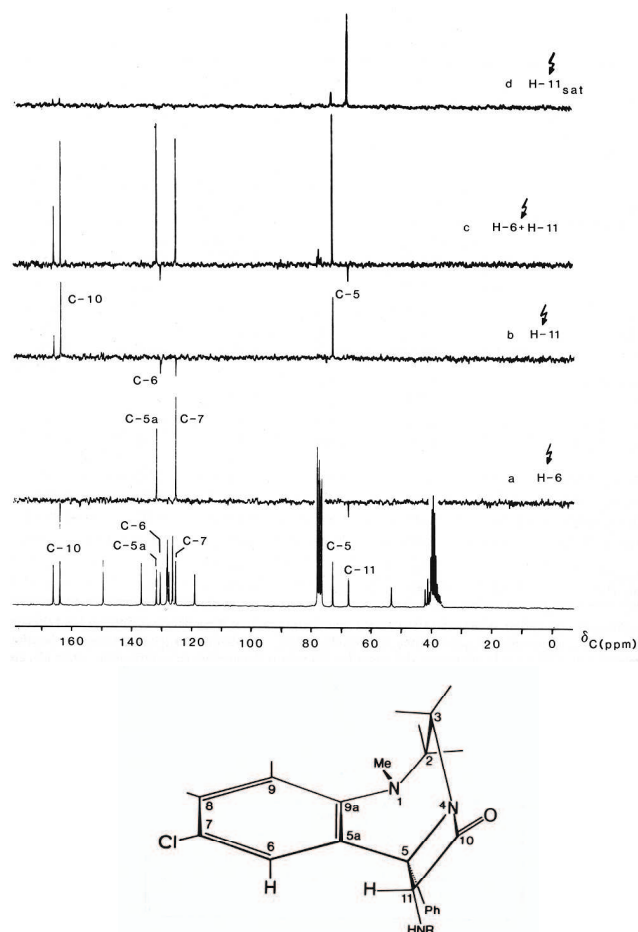
Az eddigiekben részletezett „koherens” mágnesszettség átvitelek gyakorlatilag pillanatszerűen megtörténnek. A már említett NOESY ezzel szemben „inkoherens” z -mágnesszettség átvitel a kereszt-relaxáció segítségével. Relaxációs jelenség lévén, a NOE felépüléséhez vagy lebomlásához a relaxációs időkkel összemérhető időtartamokra van szükség.



8. Ábra. A távolható ^1H - ^{13}C spin-spin csatolások mérésére alkalmas HSQMBC módszer. A 2D térkép vízszintes tengelye az ^1H kémiai eltolódás, a függőleges pedig a ^{13}C eltolódás. A keresztcsúcsok megjelenését az aktív távolható csatolások okozzák, amelyek ellenfázisú felhasadást adnak az ^1H tengellyel párhuzamos metszetekben. A felhasadásból leolvasható az $^nJ_{\text{CH}}$ csatolás értéke, amelyből pl. a csatoló partnerek által bezárt diéderes szög becsülhető.

A klasszikus egyensúlyi (steady-state) NOE kísérletekben valamely S multiplett előtelítésének hatására a térszomszédos magok jelintenzitása megváltozhat. A változás mértéke definíció szerint: $\text{NOE}_i\{S\} = (I - I_0) / I_0$ amit százalékosan szoktak kifejezni (I_0 az egyensúlyi, referencia jelintenzitás). A 2D NOESY mérés viszont a tranziens (nem-egyensúlyi) NOE mérések sorába tartozik, amelynek 1D megfelelője a multiplett invertálást követő jelintenzitás változás. A tranziens NOE kísérletekben a jelnövekedés üteme eleinte

arányos a kereszt-relaxációs sebességgel, ami a két mag közötti távolság hatodik hatványa szerint csökken, $\sigma_{IS} \sim (w_2 - w_0) \sim r_{IS}^{-6}$. Az erős távolságfüggés miatt a NOE igen alkalmas a molekula geometria meghatározására a 0.2-0.5 nm tartományban. A 9. ábrán bemutatott példa $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ egyensúlyi heteronukleáris NOE kísérletsorozatot mutat, amelynek eredményeképpen számos proton-szén távolságot 0.01 nm pontossággal lehetett megmérni egy diazepán származékban.

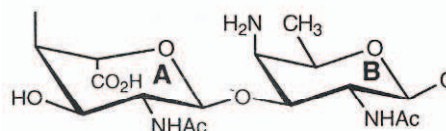
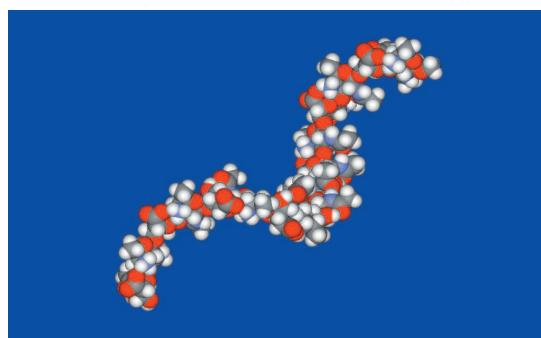
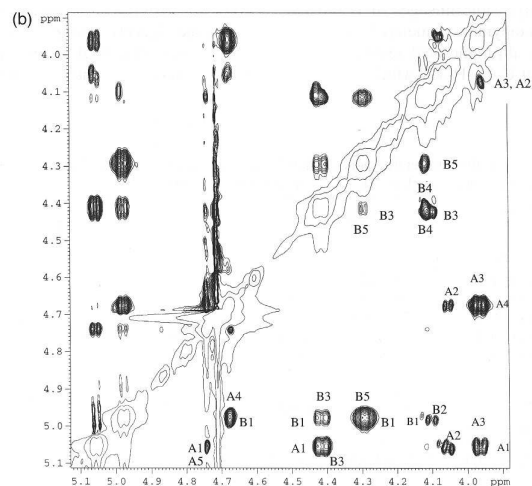


9. Ábra. Proton-szén magtávolságok mérése szelektív, heteronukleáris NOE differencia kísérletekkel, egy kis szerves molekulában. A mérési pontosság elérheti a ± 0.01 nm értéket

A NOE – hasonlóképpen a relaxációs időkhöz – a molekulák mozgási sajátságaitól is függ. Elméletileg levezethető, hogy közepes méretű molekulák viszkózus oldatában a homonukleáris NOE akár zérus is lehet, mert a mozgási tartománytól függően a NOE +50% és -100% határok közt mozoghat. Ha azonban a NOE kísérletet „forgó vonatkoztatási rendszerben” a transzverzális síkban, a B_1 RF térhez „ragasztott” spinek közt próbáljuk ki, akkor az így mért „ROE” mindig pozitív. A 10. ábrán egy kb. 20 kDa molekulásúlyú poliszacharidon mért ROESY spektrumot látunk, amely az interglikozidos CH-csatolásokkal

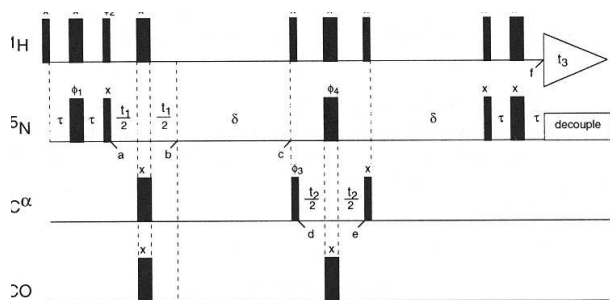
kiegészítve alkalmas a *Shigella Sonnei* baktérium sejtfalából származó alkotó konformációjának megállapítására ⁹.

Biomolekulák vizsgálata esetén a két dimenzió nem mindig ad kellő diszperziót és a jelek átlapolhatnak. A 2D módszer kiterjesztésével lehetőség van további dimenziók



10. Ábra. Proton-proton távolságok mérése 2D-ROESY kísérlettel. A B_1 térhez ragasztott spinek közötti kereszt-relaxációt mérjük a forgó vonatkoztatási rendszerben. Előnye, hogy effektus tetszőleges méretű molekula esetén is van. Egy ~ 20 kDa móltömegű poliszacharidon történt alkalmazást látunk.

bevezetésére is. A 3D-NMR gyakran használatos fehérjék és nukleinsavak szerkezetvizsgálatához, sőt a 4D-NMR-t is alkalmazzák néha. Ennél magasabb dimenziójú kísérleteket a mérési időkorlátok miatt nemigen futtatnak. A 11. ábra a $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ jelzett fehérjék jelhozzaendeléséhez használatos 3D HNCA szekvenciát mutatja. Az impulzus szekvenciában az ^1H és ^{15}N impulzusok mellett sávselektív ^{13}CO és $^{13}\text{C}_\alpha$ impulzusok is szerepelnek. Ez a kísérlet $^1\text{H} \gg ^{15}\text{N}$ INEPT-tel kezdődik, amit a ^{15}N kémiai eltolódás moduláció követ a t_1 idő alatt. A t_2 idő folyamán a mágneszettség hármas-kvantum rezgés formájában létezik, de a C_α kémiai eltolódása modulálja (észrevehetjük, hogy minden csatormán van $t_2/2$ -nél 180° -os lecsatoló impulzus a C_α csatornát kivéve). Ezután a mágneszettséget ismét ^{15}N ellenfázisú mágneszettséggé alakítjuk, amit a kísérlet végén

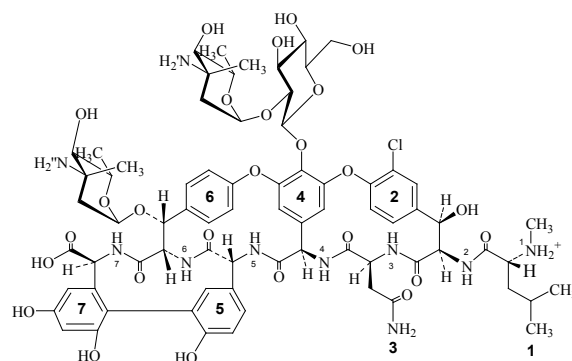


11. Ábra. A háromdimenziós HNCA kísérlet impulzus-sorozata, amely a $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ jelzett fehérjék jelhozzárendeléséhez használatos. A kezdeti proton mágneszettség átalakul a kémiai eltolódással jelölt ^{15}N majd ^{13}C mágneszettséggé, amit a detektálás idejére ismét ^1H mágneszettséggé alakítunk.

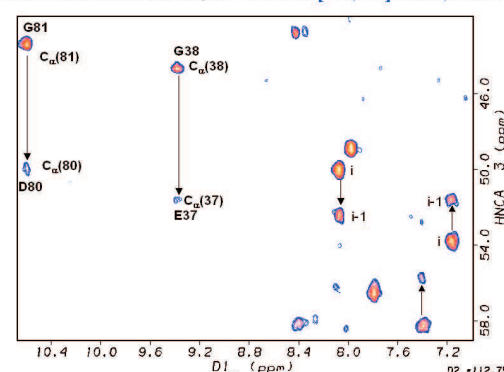
egy fordított INEPT-tel detektálható ^1H mágneszettséggé alakítunk. Ez a jel tehát tartalmazza a ^{15}N és C_α kémiai eltolódás modulációt, azaz frekvencia jelölést. A kísérleti adattáblák mérete a három irányban (^1H , ^{15}N , ^{13}C) jellemzően $1024 \times 64 \times 32$ pont. A nyert primer interferogramokat három egymást követő, Fourier transzformációval dolgozzák fel. A feldolgozás során a digitális felbontás javítására gyakran alkalmaznak zérus töltést és „lineáris jóslást”. A mai számítástechnika szintjén az adattáblák mérete már nem korlátozó tényező. A 3D spektrum koordináta tengelyei az ^1H , ^{15}N és a ^{13}C kémiai eltolódások. A HNCA spektrum síkjaiban minden i -edik NH jelhez megtalálhatjuk az i -edik és az $i-1$ -edik C_α jelét (12. ábra). Ennek a kísérletnek a HN(CO)CA mérés a párja, amelyben viszont csak az $i-1$ -edik C_α jel látszik. Néhány hasonló 3D kísérletpár segítségével kb. 20 kDa határig, ismert szekvenciájú fehérjék jelhozzárendelése – sok esetben félautomatikusan – megvalósítható. Oldatfázisban, különösen biomolekulák esetén, sokszor nem tisztázott a molekulák oligomerizációs állapota. Ilyen kérdések eldöntésére az NMR többféle megoldást is kínál. Aszimmetrikus oligomerek képződésénél az ujjlenyomat HSQC spektrumok jeleinek többszöröződése utalhat erre. Természetesen a képződő oligomerek mozgási sajátosságai jelentősen eltérhetnek a monomerekétől. A változás követhető mind a rotációs diffúzió (relaxációs mérések), mind pedig a transzlációs diffúzió (DOSY módszer) segítségével. A következőkben glikopeptid antibiotikumok oldatbeli oligomerizációja kapcsán mutatjuk be ezen technikákat.

NMR relaxáció: a molekuláris mozgások indikátora

Mivel a relaxáció forrása a molekulák random rotációja által keltett fluktuáló elektromágneses tér, nem meglepő hogy az $X = ^{15}\text{N}$ vagy ^{13}C magok „intrinsic” vagy saját T_1 és T_2 relaxációs idejét kiegészítve a kereszt-relaxációtól függő egyensúlyi $X\{^1\text{H}\}$ NOE-val, a molekulák globális és belső dinamikájáról kaphatunk képet. Mindhárom mért paramétert döntően a dipólus-dipólus (DD) és kisebb mértékben az anizotróp kémiai eltolódás (CSA) okozta relaxáció határozza meg, amelyek elméleti leírása jól ismert. A Lipari és Szabó által bevezetett „modell-mentes” kiértékelési módszerrel ¹⁰ meg lehet állapítani a molekula egészére jellemző rotációs korrelációs időt ($\tau_c \sim 0.1\text{--}20$ ns tartomány), valamint az individuális (NH_i) vagy (CH_i) csoportok belső, effektív korrelációs idejét ($\tau_e \sim 10\text{--}100$ ps

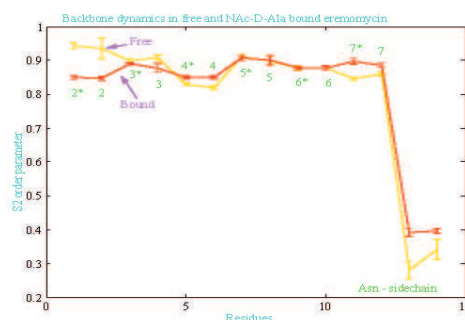


HNCA 3D kísérlet metszete - CR I-II [^{15}N , ^{13}C] 1mM, 309K



12. Ábra. A CR I-II fehérje (~12 kDa) háromdimenziós HNCA spektrumából 112.7 ppm ^{15}N eltolódásnál vett síkmetszet. Az azonos ^1H eltolódásnál észlelt intenzív és gyengébb csúcsok ^{13}C koordinátáit elolvastva juthatunk el az i -edik NH jelhez tartozó i -edik és az $i-1$ -edik C_α jelhez.

tartomány) és a rend paraméterüket ($0 < S^2_i < 1$). A merev molekula határesetében a rend-paraméterek 1-hez közeli értékűek (felcsavarodott fehérjéknél például $S^2_i \sim 0.9$), a jelentős flexibilitás pedig 0-hoz közeli S^2_i értékeket ad az oldalláncoknál. A 13. ábra az eremomicin (glikopeptid antibiotikum) aszimmetrikus dimerjének és a baktérium sejtfal peptidoglikán C-terminálisát utánzó NAc-D-Ala peptid komplexnek a dinamikára gyakorolt hatását illusztrálja ¹¹. Jól látszik, hogy az Asn oldallánc a legmozgékonyabb, míg a főlánc a keresztkötések miatt meglehetősen merev. A ligandum kötődése kisebb változásokat indukál a rend paraméterekben, amelyeket termodinamikailag a kötődés szabad energiájához való hozzájárulásként lehet interpretálni.

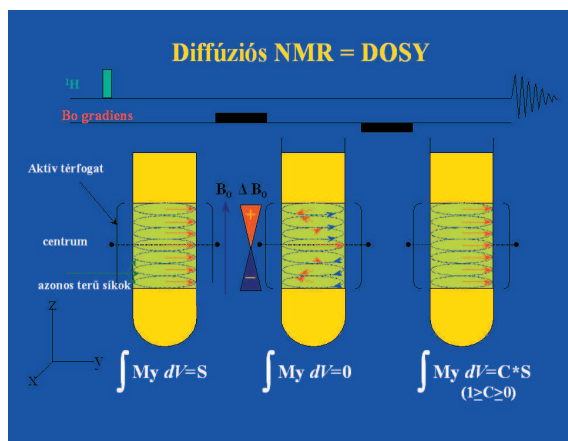


13. Ábra. A jelzett eremomicin dimer (glikopeptid antibiotikum) ^{15}N relaxációs méréseiből a Lipari-Szabó módszerrel számított S^2 „rend” paraméterek. A főlánc igen merev, amit a ligandum hozzáadása kismértékben változtat. A 3. aszparagin egységhez tartozó NH_2 oldallánc viszont mozgékony.

A relaxációs mechanizmusok különös összjátéka folytán megesik, hogy a DD és a CSA relaxáció „interferenciája” egy dublett egyik vonalát kiszélesíti, míg a másikat keskenyíti. A vonalkeskenyedés paradox módon annál markánsabb, minél nagyobb a molekula. Ezt a jelenséget használják ki biomakromolekulák NMR méréseire, amikor csak a keskeny vonalat tartják meg a kísérletekben. A TROSY ⁵ mérés alkalmazásánál nagyon erős mágneses terekben a leglátványosabb a hatás; 800-1000 MHz körüli berendezéseken várható az optimum, akár 100 kDa móltömegű fehérjéknél. A nagy molekulák felső tömeghatárának kiterjesztésén kívül a változatos relaxációs interferencia kísérletekből további fontos dinamikai és szerkezeti információkat nyerhetünk. Az előbbiekből megismert antibiotikum modell esetében a CSA-DD effektus mértéke alapján azonosítható a cisz peptid kötés ill. a ligandum kötés helye is.

Elválasztás nélküli „kromatográfia” az NMR csőben; DOSY

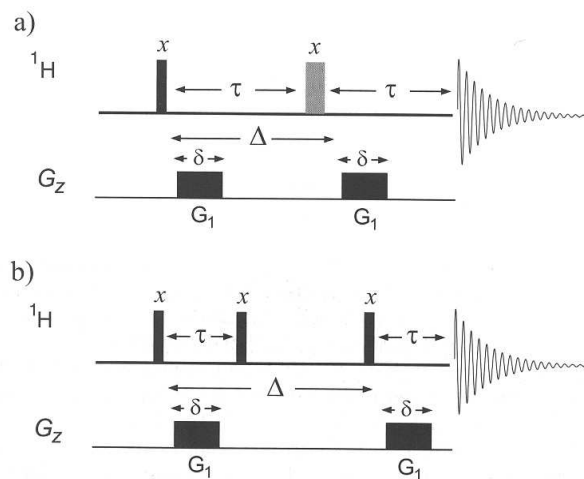
A molekulák méretétől, alakjától és a közegtől függő transzlációs diffúziós állandó a korszerű, B_0 gradiens impulzusokat adó spektrométereken egyszerűen mérhető. A mérés elvét ¹² sématiszusan a 14. ábra mutatja.



14. Ábra. A diffúziós NMR (DOSY) alapelveinek sématisz ábrázolása. Az aktív térfogattól gyorsan eldifundáló molekulákhoz tartozó magoknak a fáziskohérenca nem áll vissza, ezért ezek a jelek források „elvesznek”, és a detektálásnál kisebb jelet észlelünk.

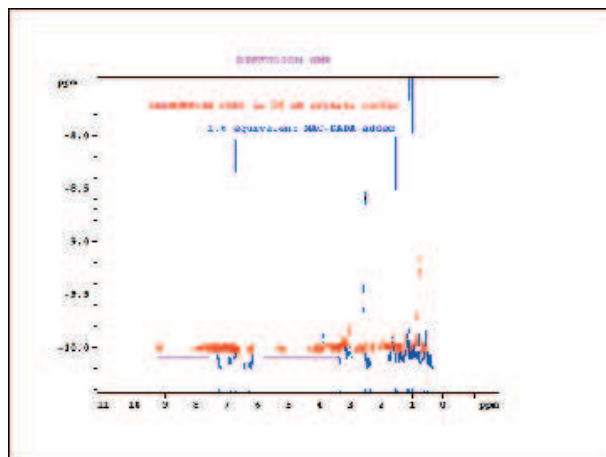
Ha a z-tengely irányában a B_0 tér homogenitását egy lineárisan változó tér bekapcsolásával néhány ms időtartamra „elrontjuk” akkor az NMR mintacső minden kis szeletében más és más lesz a rezonancia frekvencia. A kísérlet eredménye, hogy az összegzett xy síkbeli mágneszettség gyorsan megszűnik, nem lesz detektálható jel. Ha azonban, ezt követően egy azonos időtartamú és erősségű, de ellentétes irányú gradiens impulzust adunk a minta térfogatában, akkor a gyorsan és a lassan pörgő mágneszettségek szerepet cserélnek és a kísérlet végére a különböző síkokban forgó mágneszettségek újból szinkronban lesznek, és az összegzett jelben visszakaphatnánk az eredeti jelünket (a relaxációs veszteségtől eltekintve). Azonban azoknak a molekuláknak a jelét elveszítjük, amelyek a kísérlet időtartama alatt „megszöknek” az aktív térfogattól. Így a jelcsökkenés mértéke annál nagyobb lesz, minél gyorsabban

diffundálnak a molekuláink. A valóságban célszerűbb a kísérleteket egy spin-echo részeként végrehajtani (15. ábra), amikor a centrális 180°-os impulzus felcseréli a forgásirányokat, így azonos gradienssel nyerhetjük vissza a jelet.



15. Ábra. A DOSY kísérletek gyakorlati megvalósítása spin visszhang kísérletekben történik. Az ismételt kísérletekben a térgradiens erősségét növelik, és a gradiens függvényében csökkenő jel intenzitásának illesztésével kapható a diffúziós állandó.

Még kedvezőbb, ha a gradienssel jelölt mágneszettséget a diffúzió idején z-mágneszettségként tároljuk, mert a hosszabb longitudinális relaxáció előnyös a diffúzió során. A diffúziós állandó meghatározásához a kísérleteket változó erősségű gradienssekkel meg kell ismételni, és a növekvő gradiens függvényében gyengülő jelek intenzitását az elméleti Stajskel-Tanner formulával illesztve a „D” diffúziós állandó meghatározható. Zsúfolt, átlapoló ¹H NMR spektrumok esetében a jelenkénti illesztések nem egyszerűek. A vizuális megjelenítés érdekében az exponenciális illesztések helyett inverz Laplace transzformációt használnak, amely a diffúziós állandót közvetlenül jeleníti meg mint egy pseudo 2D kísérlet diffúziós frontját.



16. Ábra. Az eremomicin dimer DOSY spektruma. Az oligomerizáló dipeptid agens hozzáadása után újabb két diffúziós front jelenik meg, feltehetően a tetramer és az oktamer jelei. Ebben az ábrázolásban a \log_{10} alapú skálán a diffúziós sebesség 0.1 egységnyi változása kb. kétszeres tömegváltozásnak tulajdonítható.

A 16. ábrán bemutatott DOSY spektrum start pontját az eremomicin dimer éles frontja adja. Oligomerizáló ágenst az oldathoz adva újabb két diffúziós front jelenik meg kétszeres és négyszeres móltömegnél. Sok esetben használnak DOSY-t a molekulák hidrodinamikai sugarának mérésére és ebből következően az oldatfázisú móltömeg becslésre a $D_1/D_2 = (M_2/M_1)^{(1/3)}$ formula alapján (D diffúziós állandó, M molekulatömeg jelölésekkel), továbbá homo-vagy hetero aggregátumok detektálására, ligandum kötődés jellemzésére, fehérje konformáció változás észlelésére.

Zárszó

Összegzésképpen azt mondhatjuk, hogy az NMR sikertörténet töretlenül folytatódik a nagyfelbontású NMR spektroszkópia területén (is). Az elméleti módszerek bevonulnak a gyakorlatba, a technológia inspirálja a mérés technika fejlődését. A szilárd-és folyadékfázisú, sőt a leképező (orvosi, MRI) mérés technikák kölcsönösen ötleteket adnak egymásnak. Ma az NMR molekulaszervezeti és dinamikai vizsgálatok lehetőségei összehasonlíthatatlanul jobbak mint akár a tíz évvel ezelőttiek. Ne felejtjük el azonban, hogy a biomolekuláris és természetes anyagok szerkezet-vizsgálatához szükséges nagyterű NMR spektrométerek drágák, és ha évtizedes elmaradásunkat nem tudjuk pótolni ezen a téren, akkor reménytelenül távol kerülhetünk az NMR kutatások és alkalmazások élvonalától.

Köszönetnyilvánítás

Abban a szerencsében van részem, hogy több mint húsz esztendeje dolgozhatok egy laboratóriumban Dr. E. Kövér Katalinnal és Dr. Szilágyi Lászlóval, akiknek ezúton is köszönöm eddigi együttműködésünket, önzetlen segítségüket.

Irodalom

1. Hore, P.J. *Mágneses Magrezonancia* (ford. Szilágyi László) Nemzeti Tankönyvkiadó (ISBN 963 19 4426 3), **2004**.
2. Harris, R.K. *Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy: A Physicochemical View*, Longman Ltd. (ISBN 0 582 44653-8), **1997**.
3. Palczewska, M.; Groves, P.; Batta, Gy.; Heise, B.; Kuznicki, J. *Protein Science* **2003**, *12*, 180-184
4. Cavanagh, J.; Fairbrother, W.J.; Palmer III, A.G.; Skelton, N.J. *Protein NMR Spectroscopy*, Academic Press (ISBN 0-12164490-1), **1996**.
5. Pervushin, K.; Riek, R.; Wider, G.; Wüthrich, K. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **1997**, *94*, 12366-12371.
6. Sorensen, O.W.; Eich, G. W.; Levitt, M. H.; Bodenhausen, G.; Ernst, R. R. *Progress in NMR Spectroscopy* **1983**, *16*, 163-190.
7. Boulanger, A.; Vulpanovici, A.; Roberts, M. A.; Gerwick, W. H. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 7927-7936.
8. Williamson, R.T.; Marquez, B. L.; Gerwick, W. H.; Kövér, K.E. *Magn. Reson. Chem.* **2000**, *38*, 265-273.
9. Batta, Gy.; Lipták, A.; Schneerson, R.; Pozsgay, V. *Carbohydr. Res.* **1998**, *305*, 93-99.
10. Lipari, G.; Szabo, A. *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 4546-4559.
11. Batta, Gy.; Sztaricskai, F.; Makarova, M. O.; Gladkikh, E. G.; Pogozheva, V. V.; Berdnikova, T. F. *Chem. Com.* **2001**, 501-502.
12. C.S. Johnson, Jr. *Progr. NMR Spectr.* **1999**, *34*, 203-256.

NMR a szénhidrátkémiában

Szilágyi László, a kémiai tudomány doktora

Debreceni Egyetem, TTK, Szerves Kémiai tanszék

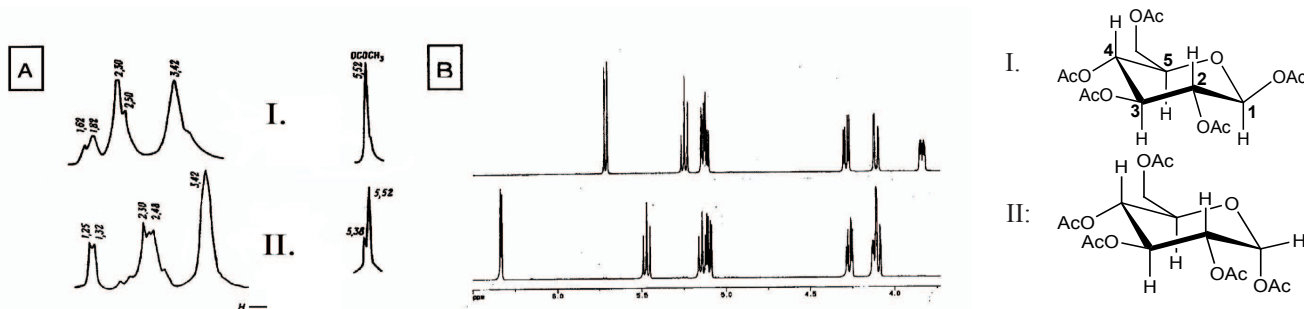
lszilagyi@tigris.klte.hu

Ha egy (reprezentatív mintán végzett) közvélemény kutatás során kémikusokat megkérdeznénk, hogy az NMR spektroszkópia területéről kinek a neve jut először eszükbe, akkor a *Karplus* név minden bizonnyal „utcahosszal” nyerne. A három-kötéses proton-proton csatolási állandó és a megfelelő torziós szög közötti összefüggést leíró, 1959-ban megalkotott egyenlet ¹ hihetetlen népszerűsége tett szert a folyadékfázisú molekulaszervezeti kutatásokban. Kevésbé közismert, hogy az elméleti általánosítás kísérleti megalapozását Lemieux és mtsai. ² egyszerű szénhidrátokon végzett mérései képezték. Az NMR alkalmazása szénhidrátok szerkezetvizsgálatára tehát a „hőskorra” nyúlik vissza. Nem túlzás ezt állítani, hisz olyan alapvető jelenségek, mint a kémiai eltolódás és a magspin-magspin csatolás az idő tájt még meglehetősen újdonságnak számítottak kémikus berkekben. E felfedezések a múlt század 50-es éveinek elején történtek, fizikai laboratóriumokban, mai szemmel nézve igen kezdetleges, általában házi építésű spektrométerek alkalmazásával, és az eredményeket fizikai folyóiratokban publikálták.

Az NMR spektroszkópia kuriózumnak számított ebben az időben, amely kevés kémikus fantáziáját mozgatta meg, és még kevesebben voltak olyan szerencsések, hogy mérőberendezés közelébe is juthattak. „Nagy felbontású” ¹H NMR spektrumot elkészíteni egy – mondjuk – az etanolnál bonyolultabb molekuláról az instabil és roppant kis érzékenységu spektrométereken önmagában nagy eredménynek számított. Pl. a stabilitást ugrásszerűen megnövelő forradalmi újítást, a „tér-frekvencia visszacsatolást” („field-frequency lock”) az 1961-ben forgalomba kerülő Varian A-60-as készüléken alkalmazták először ³, azaz jó pár évvel Lemieux idézett munkájának megjelenése után. Elég egy pillantást vetni az első szénhidrát NMR spektrumokra amelyek egy nem-stabilizált spektrométeren, 40 MHz (!) mérési frekvencián készültek (I. ábra), hogy megállapíthassuk: nem kis merészség szükségeltetett az – azóta sok ezer példával alátámasztott – összefüggés (általános) megfogalmazásához, miszerint $^3J_{\text{HaxHax}} > ^3J_{\text{HaxHekv}}$. Tegyük hozzá: jó adag szerencse is,

hogy olyan vegyületekkel kísérleteztek, amelyek bonyolult spektrumában *egyetlen* (az anomer-) proton rezonanciajele annyira elkülönül, hogy a (csupán néhány Hz-es) spin-spin csatolás észlelhető az említett mostoha körülmények ellenére is. A hályogkovács esete juthat eszünkbe: ha a kutatók sejtették volna, hogy a természetes vegyületek körében a szénhidrátok NMR-sajátságai a legkedvezőtlenebbek (ami azóta kiderült: I. alább), akkor feltehetően más anyagokkal kísérleteztek. De: *sors bona, nihil aliud*. A mondás igazságát támasztja alá, negatív példával (!), a polipeptid/protein NMR spektroszkópia korai története. Saunders és mtsai gyakorlatilag a fentiekkel egyidőben publikálták az RNáz-A enzim első proton NMR spektrumát ⁴. Ez azonban nemhogy serkentette volna a terület további kutatását, hanem ellenkezőleg: legalább egy évtizedre kedvét szegte a kutatóknak és elriasztotta őket a további vizsgálódásoktól ⁵. Az azután már a sors fintora, hogy – míg a proteinek NMR vizsgálata napjainkra lélegzetelállító eredményeket produkált ^{6,7}, hasonló sikerekről a szénhidrátok (oligo- és poliszacharidok) területén nem tudunk beszámolni, és – meglehet – ez a helyzet tartósan fennmarad. Bár jósolni mindig kockázatos: „The hope ...for a complete determination of the structure of proteins...in solution...did not materialize and will not in the foreseeable future...” – írták jónevű szerzők, egyébként kitűnő könyvükben, 1981-ben Jardetzky & Roberts, ⁸. Wüthrich (kémiai Nobel-díj, 2002) és mtsai a következő évben publikálták általános módszerüket ⁹ fehérjék szerkezetmeghatározására oldatban...

Mi tehát az oka, hogy oligo- és poliszacharidok területén a modern, többdimenziós NMR-technika elképesztően hatékony módszereivel is csak viszonylag szerény eredményeket sikerült elérni ezidáig – legalább is a fehérjékhez viszonyítva? A legfőbb ok a kétfajta oligo- / polimer kémiai szerkezetének különbözőségében rejlik. A polipeptidek (fehérjék) egyszerű aminosavakból felépült *lineáris* láncmolekulák. Szerkezeti skémájuk igen egyszerű: a főláncot alkotó *monoton* ismétlődő (NH-CH-CO) motívumok középső szénéhez pár szénatomos *oldalláncok* kapcsolódnak. Ennek megfelelően az NMR jelhozzárendelés



1. Ábra. A β- (I) és α- (II) pentaacetyl-D-glükóz ¹H-NMR spektrumai. (A): Egy tértstabilizálás nélküli, 40 MHz-es spektrométeren 1956-ban ² készült, és (B): egy modern 500 MHz-es berendezésen napjainkban készített felvételek

(amely minden szerkezetmeghatározás alapja) stratégiájának két, jól elkülöníthető lépését a főlánc-, illetve az oldalláncok rezonanciajeleinek azonosítása képezi. Különösen igaz ez a modern, többdimenziós, tripla-rezonancia módszerekre ¹⁰. A szerkezet linearitása miatt az eljárás jól *algoritmizálható*: a korábbi „manuális”, időrabló módszereket mára nagyrészt felváltották az automatizált programok.

A szénhidrát oligo- / polimerek molekulaszervezete jóval változatosabb, bonyolultabb. A monoszacharid-alegységeket összekapcsoló glikozidos kötés *konfigurációja* (α - vagy β), valamint a kapcsolódás (glikozilezés) *helye* is változó a különböző oligoszacharidokban. A monoszacharidok gyűrűs vegyületek: a (gyakoribb) 6-os (piranóz) gyűrűk mellett 5-ös (furanóz) szerkezetek is előfordulnak. Lineáris oligomerek mellett igen gyakran találkozunk *elágazó*, sok esetben többszörösen elágazó (ilyen pl. a legtöbb glikoprotein oligoszacharid-komponense) láncszerkezetekkel. Az aminosavak lényegében *bifunkciós* vegyületek (néhány esetben *egy* további funkciós csoporttal az oldalláncban), *egyetlen* kiralitási centrummal, a monoszacharidok ezzel szemben *multifunkciósak* és *multikiralisak*. További bonyodalom forrása, hogy a *redukáló* oligoszacharidok minden esetben legalább *két-komponensű* egyensúlyi *elegyet* alkotnak (α/β -anomerek; a komponensek száma elvileg akár *nyolc* (!) is lehet). És akkor még nem beszéltünk a gyűrűkonformáció változásának (elvi) lehetőségéről (piranóz gyűrűknél: ⁴C₁ vagy ¹C₄).

Mindezen szerkezeti különbségek eredményeképpen az oligoszacharidok *sokfélesége* (diverzitása) messze felülmúlja az azonos számú monomer egységből felépíthető oligopeptidekét. Pl.: míg 5 aminosavból (A,B,C,D,E) összesen 5! = 120 különböző pentapeptid képződhet (a sokféleség forrása csupán a *szekvencia*), addig az 5 hexózból konstruálható különböző pentaszacharidok száma 2 144 640 (!). Másképp érzékeltetve a kétfajta biopolimer-típus szerkezeti különbözőségét: míg az összes polipeptid (fehérje) kémiai szerkezetét leírja az (NH-CHR-CO)_n általános képlet, addig poliszacharidokra nem adható meg semmiféle általános szkéma. Ezek a különbségek „visszaköszönnek” a kétfajta biopolimer kutatásának minden aspektusában - legyen szó izolálásról, szintézisről avagy szerkezetmeghatározásról - nagyjából a *sokféleségnél* említett arányban!

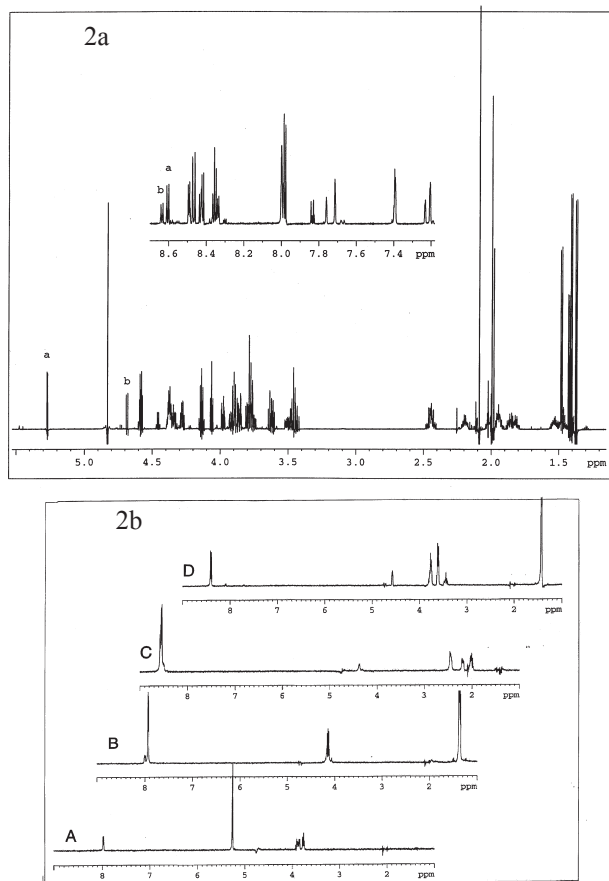
Bár jelen összefoglalóban azt kívánjuk áttekinteni, hogy az NMR spektroszkópia mennyiben képes hozzájárulni szénhidrátok (első sorban oligoszacharidok) bonyolult szerkezeti problémáinak megoldásához, szükséges röviden felvázolni azt a környezetet, amely az effajta vizsgálódások szükségszerű hátterét képezi. Az oligo- / poliszacharidok nagy része a természetben más biomolekulákhoz, -polimerekhez kapcsolódik, ún. *glikokonjugátumok* formájában. Ilyenek a viszonylag kisméretű *glikolipidek*, az óriás extracelluláris *proteoglikánok*, illetve a *glikoproteinek* és *peptidoglikánok*. Az NMR alkalmazások bemutatásához főleg az utóbbi két csoportból választottunk példákat. Az oligoszacharid-komponenst a vizsgálathoz először el kell különíteni (enzimatis vagy kémiai hasítással) a konjugátum egyéb komponense(i)től, és általában egy tisztítási-elválasztási lépést (különböző kromatográfiai módszerek, kapilláris elektroforézis, stb.) követően kerül sor a szerkezetvizsgálatra ¹¹.

Az NMR jelhozzárendelés

Az NMR módszer alkalmazása során első lépésként minden esetben meg kell állapítanunk, hogy a spektrumban megjelenő rezonanciajelek a vizsgált molekula mely atomjaitól (pontosabban: atommagjaitól) származnak. Ez a *jelhozzárendelés* (asszignáció) oligomerek esetében két szakaszra bontható: először azonosítjuk az egyes monomer-egységekre rezonanciajeleket (alegység-specifikus hozzárendelés), majd megállapítjuk, hogy a teljes spektrumban egy adott alegységhez rendelt jelek részhalmaza a kémiai kötésekkel kapcsolódó alegységek *sorrendjében* (*szekvencia*) *hányadik* taghoz tartozik (szekvencia-specifikus hozzárendelés). Utóbbi feladat megoldásához szükséges a szekvencia független módszerekkel (pl. kémiai-, vagy enzimatis lebontás, tömegspektrometria, stb.) meghatározott, előzetes ismerete! Az NMR spektroszkópus feladata „mindössze” annyi, hogy spektrális bizonyítékot találjon a szomszédos egységek kapcsolódására (*konnektivitás*). A szekvencia-specifikus jelhozzárendelés módszerét polipeptidekre dolgozták ki ⁷; a megközelítés elvben oligo-/poliszacharidokra is átvihető. A szénhidrátokra jellemző specifikus nehézségek (l. fent) miatt azonban *teljes* NMR-jelhozzárendelés 10-12-tagú oligoszacharidnál nagyobb molekulákra alig ismert az irodalomban. Az eddig elért egyik legnagyobb teljesítmény egy 29-tagú oligoszacharid (RG-II) csaknem teljes jelhozzárendelése volt ¹²; ez főleg az alkotó monoszacharidok változatosságának volt köszönhető. Ezen viszonylagos „lemaradás” (a fehérjékhez képest) oka a már említetteken kívül még legalább két további tényezőben keresendő. Egyrészt a szénhidrátok proton-NMR spektrumai jóval összetettebbek (bonyolultabb spinrendszerek), és zsúfoltabbak (kisebb spektrális diszperzió), mint a peptidké, másrészt a protein NMR-spektroszkópiában az utóbbi egymásfél évtizedben oly sikeresnek bizonyult biotechnológiai expresszási és izotópjelölési módszerek ¹⁰ gyakran nem alkalmazhatók oligo/poliszacharidokra (pl. az említett RG-II oligoszacharid bioszintézisében igen sok gén működik közre), de ha igen, legtöbbször specifikus eljárások szükségesek.

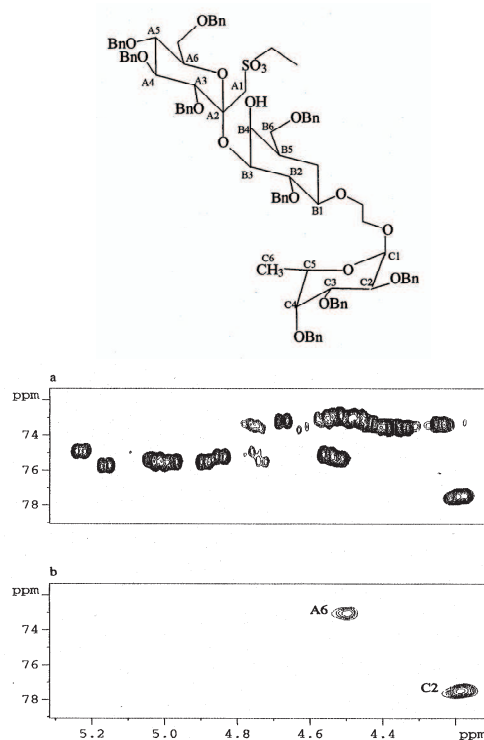
Kis tagszámú oligoszacharidok, oligopeptidek

A monomer-egységek ¹H-jelhozzárendelésének kiinduló pontját az anomer-protonok képezik, amelyek rezonanciajelei általában jól elkülönülnek kb. 4.4-5.5 ppm között. A 2D COSY és TOCSY módszerek elvben lehetővé teszik az egyes monoszacharid alegységek összes ¹H-rezonanciajelenek azonosítását (legalább is pentózok és hexózok esetében), azonban a kis csatolási állandók (pl. manno- vagy galakto konfigurációk esetében) és / vagy a spektrális zsúfoltság miatt itt is adódhatnak nehézségek. A 2D módszerek 1D szelektív variánsai vagy speciális, 2D szelektív mérési szekvenciák gyakran segítséget jelentenek az effajta problémák megoldásában. Pl. a 2a. ábrán látható spektrum egy glikopeptidtől származik, amelynek szénhidrát része csupán két monoszacharidból áll, ám az egyik anomer proton jele a peptid α -protonok tartományába „csúszik”. 1D szelektív TOCSY kísérletekkel azonban az átfedések kiküszöbölhetők ¹² (2b. ábra): Oligoszacharid szintézisek során gyakran az alkalmazott védőcsoportok okoznak zavaró jelátfedést. A 3. ábra egy



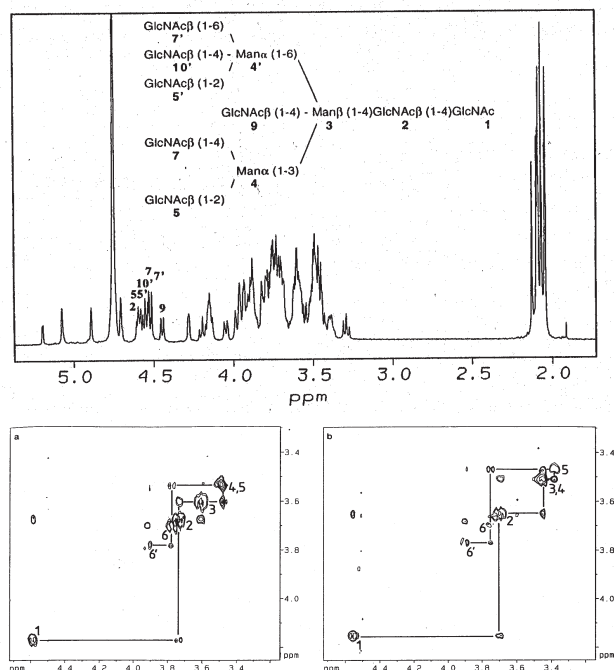
2. Ábra. A *Brevibacterium divaricatum* baktérium sejtfalából izolált peptidoglikán-monomer (PGM: D-GlcNAc- β (1 \rightarrow 4)-D-MurNAc-L-Ala-D-isoGln-mesoDap(ϵ NH₂)-D-Ala-D-Ala) 750 MHz-es ¹H-NMR spektruma (fent) és a szelektív 1D TOCSY technikával készült 500 MHz-es „alspektrumok” (lent). A diszacharid-rész MurNAc „redukáló” végén α/β anomer-keverék, ezért minden rezonanciajel megkettőződik az anomer arányának megfelelő intenzitásokkal. Ez a jelenség legjobban a MurNAc anomer-protonok jelein észlelhető: α (a) – 5.27 ppm, β (b) – 4.68 ppm. A GlcNAc β -H1 rezonanciajele (4.58 ppm) átfed az aminosav-részek α -H-jeleivel (fent). Utóbbi rezonanciajel tisztán azonosítható a GlcNAc-egység „alspektrumában” (D, lent). A másik három alspektrum az α -MurNAc-tól (A), a D-Ala5 (B) és a D-isoGln (C) egységektől származik¹³

triszaccharid-származék ¹H-¹³C korrelációs spektrumát (HSQC) mutatja, amelyben a benzil-CH₂ rezonanciajelek az egyik váz-CH jelét *mindkét dimenzióban* elfedik. A zavaró jelek a spektrumból egy speciális sávselektív jelelnyomási szekvenciával eltávolíthatók (3b. ábra)¹⁴: Az ¹H-, és a ¹³C-spektrumok „anomer tartománya” (~ 4.4-5.5 ill. ~ 90-110 ppm) általában lehetőséget nyújt az oligoszaccharidot alkotó alegységek „leszámlálására”; a manapság rutinszerűen használt HSQC mérés az ¹H-, és a ¹³C előnyeit (érzékenység ill. kedvező spektrális diszperzió) egyesíti. Az anomer (esetenként egyéb-) protonok eltolódásai ezen kvantitatív adaton túlmenően az oligoszaccharid szerkezetére vonatkozó kvalitatív információt is tartalmaznak. Vliegthart és mtsai glikoproteinekből izolált nagyszámú oligoszaccharidon végzett empirikus összehasonlítás eredményeképpen a „szerkezetre utaló csoport” fogalmát vezették be a jelenség leírására¹⁵. A spektrális jelátfedések nagyobb tagszámú oligoszaccharidok esetén már nem, vagy csak részlegesen



3. Ábra. Egy perbenzilezett (Bn = C₆H₅CH₂-) triszaccharid (fent) ¹H,¹³C-HSQC-spektrumának a benzil-CH₂ rezonanciajeleket tartalmazó részlete: (a) közös HSQC-szekvenciával, és (b) sávselektív jel-elynyomással kombinált HSQC-szekvenciával¹⁴ mérve.

kezelhetők szelektív módszerek alkalmazásával. A probléma általános és leghatékonyabb megoldása a három- (esetleg négy-) dimenziós (3D, 4D) spektroszkópia. Ezek, a polipeptid/protein területen oly sikeres módszerek oligopoliszaccharidok szerkezetvizsgálatában eddig kevésbé terjedtek el, főleg a megfelelő izotópjelzési technikák nehézségei miatt, ahogy arra fentebb utaltunk. Korábban ezért 3D homonukleáris módszerekkel kísérleteztek, esetenként részleges sikerrel. Egy sikeres példa a 4. ábrán látható többszörösen elágazó, „ötfarkú” glikán, amelyben az NMR jelhozzárendelést roppant megnehezíti a nagyszámú azonos (esetenként azonos glikozidos kötében lévő) monoszaccharid-egység: 11-ből 8 GlcNAc, és ebből 6 láncvégi pozícióban kötött, β -anomer-konfigurációban! Emiatt az ¹H-spektrum anomer tartománya is igen zsúfolt (4a. ábra). Egy speciális (ún. konstans t_2 -idejű) 3D HOHAHA-COSY (más néven: TOCSY-COSY) méréssel az átfedések tökéletesen feloldhatók, és hét GlcNAc-egység ¹H-spektrumai elkülönítve hozzárendelhetők (4b. ábra)¹⁶. Az *anomer konfiguráció* meghatározására Lemieux úttörő munkája (ibid.) nyomán a $J_{H1,H2}$ csatolási állandó szolgál. Ez a paraméter, amelyet bonyolultabb spektrumokból 2D- vagy 1D-TOCSY-méréssel határozhatunk meg, nem ad minden esetben egyértelmű eredményt (pl. ha H-2 ekvatoriális térállású). Ilyen esetekben az egykötéses proton-szén-13 csatolási állandó alkalmazható: $^1J_{C,H_{eqv}} \sim ^1J_{C,H_{ax}} + 10$ Hz^{17,18}. Korábban kimutattuk, hogy a fenti kvalitatív szabály érvényes *non-anomer* protonokra is, másrészt viszont, bizonyos esetekben, a két csatolás különbsége elenyésző lehet anomer C-H-kra is, ami óvatosságra int az anomer konfiguráció

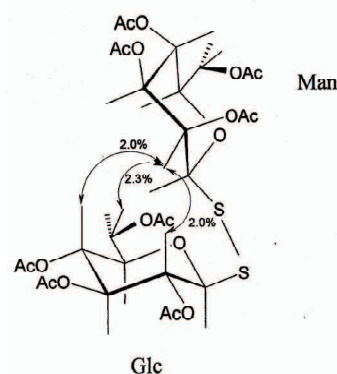


4. Ábra. Egy N-glikán típusú, többszörösen elágazó lánccal rendelkező undekaszaccharid 500 MHz-es ^1H NMR spektruma (fent): az anomer protonok rezonanciái erősen átfednek a 4.4 – 4.6 ppm tartományban. Lent: a szövegben jelzett 3D adatmátrix megfelelő (F1/F3) 2D metszeteiből az egyes alegységek ^1H -jelhezrendelése „COSY-stílusban” egyértelműen elvégezhető, még „patológus” jelátírás esetén is, ahogyan ezt az 5-ös (balra) és az 5' (jobbra) β -GlcNAc-egységek példája szemlélteti ¹⁶.

meghatározásánál $^1J_{\text{C,H}}$ alapján ¹⁹. Kérdéses esetekben segítséget jelenthet a proton-proton távolságok ^1H NMR relaxációs módszerekkel történő mérése ²⁰.

Az alegységek közötti kapcsolat, azaz a *glikozilezés helyének* vizsgálata általában a glikozidos híd [$\text{C}(1')\text{H}(1')\text{-O-C}(n)\text{H}(n)$] pillératomjai közötti skaláris- (J -csatolás) vagy dipoláris (NOE, ROE) kölcsönhatás kimutatásával történik. Általánosan használt módszer a háromkötéses proton-szén-13 csatolás ($^3J_{\text{C,H}}$) észlelése az interglikozidos kötésen át. Erre a célra legalkalmasabb a 2D HMBC mérés, amelynek hatékonyságát a gradiens-módszerek bevezetése ugrásszerűen megnövelte. A módszer akkor is alkalmazható, ha az interglikozidos híd alkotó egyik szénatom kvaterner (pl. ketószek esetében). A $^3J_{\text{C,H}}$ csatolás nagysága ugyanakkor fontos adat a glikozidos kötés konformációjának vizsgálatához (l. alább). Oligoszaccharidokban a glikozidos kötés helyének és a gyűrűtagszám egyidejű meghatározására alkalmas módszert javasolt Jones és Bendiak ²¹, amelynek a lényege a következő. A szabad OH-csoportokat ^{13}C -mal kétszeresen jelzett acetil-származékká ($-\text{O}-^{13}\text{CO}^{13}\text{CH}_3$) alakítják, majd a meghatározzák a 3-kötéses ^{13}C - ^1H -csatolásokat a gyűrű-protonokkal. A glikozid-kötés pillératomjaihoz, valamint a gyűrű-oxigén nem-anomer szénéhez kapcsolódó protonok ilyen korrelációt nem adnak. A ^{13}C - ^1H -korrelációkat különböző 3D heteronukleáris szekvenciák segítségével jelenítik meg, így módon kiaknázható a 3D technika legfőbb előnye: a kémiai eltolódások szerinti „szétválogatás” különböző dimenziókban. A módszer – amely mintegy a metilezési analízis NMR analógiájának tekinthető – általánosíthatónak ígérkezik; alkalmazását a szerzők egy tetraszaccharid példáján mutatták be ²¹.

A glikozilező egység anomer protonja az aglikon-egység több protonjával is létesíthet interannuláris NOE/ROE kölcsönhatást, nemcsak az interglikozidos kötésen keresztül. Interannuláris NOE/ROE észlelése ezért kis tagszámú oligoszaccharidokban az egységek kapcsolódásának tényét nagyobb biztonsággal rögzíti, mint a kapcsolat pontos helyét. Ez az NOE-módszer jelentőségét nem csökkenti, ellenkezőleg: akkor is jelzi az alegységek kapcsolódását, amikor nincs mérhető J -csatolás az interglikozidos kötésen át. Ilyen eset az eléggé gyakori 1-6 glikozidos kötés (pl. az amilopektinben) vagy a NeuNAc2-6 kötés pl. glikoprotein N-glikánokban. E származékokban az alegységek *három kötésen* át [$\text{C}(1')\text{-O-C}(6)\text{-C}(5)$] kapcsolódnak egymáshoz, szemben a fentebb jelzett *két*kötéses kapcsolattal. Némileg egzotikusabb példát szolgáltatnak a háromkötéses interglikozidos hídra a nemrég szintetizált diszulfid-diszaccharidok, amelyekben az egységek kapcsolatát NMR módszerrel kizárólag az interannuláris NOE-k igazolták ²² (5. ábra).



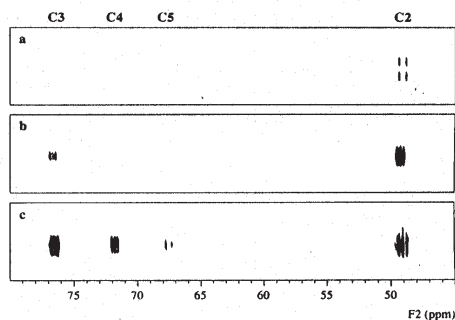
5. Ábra. Interannuláris NOE-kölcsönhatások egy háromkötéses interglikozidos hidat tartalmazó diszulfid-diszaccharid származékban ²².

Poliszaccharidok

Az oligoszaccharidok vizsgálatára kidolgozott módszerek elvileg poliszaccharidokra is alkalmazhatók. A fentiekben jelzett nehézségek poliszaccharidok esetében értelemszerűen halmozottan jelentkeznek. A kémiai szerkezetből fakadó problémákkal kapcsolatban érdemes ismét visszautalni a fentiekre. A poliszaccharidok szerkezete az utóbbiakénál egyszerűbb is, meg bonyolultabb is egyszerre. A *monoton* (felépítésű) poliszaccharidok (pl. amilóz, vagy kitin) primer szerkezete roppant egyszerű (A_n), az NMR jelhezrendelési probléma ezért elvben nem jelent bonyolultabb feladatot, mint egy monoszaccharid esetében. Ez az egyszerűség ugyanakkor drasztikusan leszűkíti a térszerkezet, konformáció vizsgálatára alkalmazható NMR paraméterek körét: hiányoznak u.i. a szekvenciafüggő kémiai eltolódások, amelyek a konformációfüggő paraméterek (pl. NOE-k) meghatározásához szükségesek. A legtöbb, élettanilag fontos poliszaccharid ismétlődő egységekből épül fel, vagyis az $(A-B-C-D-...)_n$ általános formulával jellemezhető. Az ismétlődő szekvencia (amely tartalmazhat elágazásokat is) hossza általában nem nagy, pl. az igen fontos élettani szerepet betöltő glikozaminoglikánokban (hialuronsav, kondroitin-szulfát, keratin-szulfát, heparin) diszaccharid-egységek ismétlődnek, de a nagyobb ismétlődő szekvenciák hossza is ritkán haladja meg a 10-12 monoszaccharid egységet. Így a

poliszaccharidok NMR jelhozzárendelési stratégiája – első közelítésben – visszavezethető az oligoszaccharidoknál alkalmazott eljárásokra.

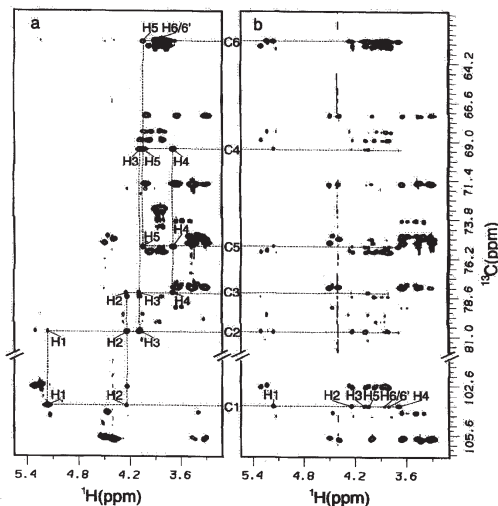
Részen érzékenységi okokból, részben azért, hogy a fehérjék szerkezetvizsgálatára kifejlesztett NMR-arsenál közvetlenül átvihető legyen erre a biopolimer-csoportra, egyre gyakrabban támaszkodnak az izotópjelzés (ami sok esetben sajnos, nem alkalmazható, l. fentebb) nyújtotta előnyökre. Így pl. hasznosíthatók a ^{13}C -jelzett proteineknel sikerrel alkalmazott ^{13}C - ^{13}C -koherencia-transzferen alapuló eljárások, amelyek a kicsi és változó 3-kötéses proton-proton csatolások helyett a sokkal nagyobb, és kevésbé változó egy-kötéses szén-szén csatolásokat hasznosítják. Egyik kézenfekvő lehetőség a 2D ^{13}C - ^{13}C -TOCSY kísérlet: itt közvetlenül a szén-szén konnektivitások jelennek meg az $^1J_{\text{CC}}$ -csatolásokon keresztül, ugyanúgy, mint a „közönséges” (^1H - ^1H -) TOCSY-ban. A ^{13}C - ^{13}C -TOCSY különösen hasznos *manno-* (*ramno-*), vagy *galakto-*konfigurációk esetén, aholis a megfelelő proton-proton-transzfer láncolat az ^1H - ^1H -TOCSY-ban „megszakad” a 2-es illetve 4-es proton helyén a kicsi (gyakran ~ 0) J_{HH} -csatolás miatt. Erre szolgáltat példát egy *E. coli* lipopoliszaccharid, amelynek pentaszaccharid ismétlődő szekvenciájában két galakto- és egy ramno-konfigurációjú egység található ²³(6. ábra).



6. Ábra. Az *E. coli* O25 jelű, ^{13}C -jelzett poliszaccharid 2D ^{13}C - ^{13}C -korrelációs spektrumrészletei. Az egyes „csíkok” az α -L-FucpNAc egység anomer szénének ^{13}C -korrelációs „keresztcsúcsait” mutatják három különböző ^{13}C - ^{13}C -TOCSY kísérletben, amelyekben az ún. izotróp keverési időt az a)-c) sorrendben növelték. A c) esetben egyértelműen megjelennek a C1-C2-C3-C4-C5 korrelációk ²³.

Egy másik példa egy hexaszaccharid ismétlődő egységet tartalmazó glükurono-xilomannán, amelynek összes C-atomját 99%-ban dúsított ^{13}C -ra cserélve, elvégezték az alegységek teljes ^1H - és ^{13}C -jelhozzárendelését ²⁴. Erre a célra az ún. „konstans idejű” HCCH-COSY és HCCH-TOCSY 2D szekvenciákat használták, amelyek szintén a nagy, egykötéses csatolások közvetítette koherencia-transzfert hasznosítják, és korábban már sikerrel alkalmazták őket ugyancsak ^{13}C -jelzett oligoszaccharidokra. A 7. ábrán látható, hogy a csatolási korrelációkat lépésről-lépésre követve a 2D-térképeken kijelölhető egy adott monoszaccharid-egység teljes spinrendszere: az eljárás emlékeztet a polipeptideknél alkalmazott „klasszikus” szekvenciaspecifikus jelhozzárendelési protokoll ²⁵ első lépésére.

A monoszaccharid-spinrendszerek szekvenciában elfoglalt helyének azonosítása az interglikozidos kötések át ható $^3J_{\text{CH}}$ csatolásokon keresztül, a szokásos HMBC módszerrel



szert, mint ahogy ez a fehérjék esetében történik³⁰. Egy nemrég megjelent közlemény pl. cellulóz polimorf kristályszerkezetek finomításáról számol be szilárd fázisban mért ^{13}C kémiai eltolódások felhasználásával³¹.

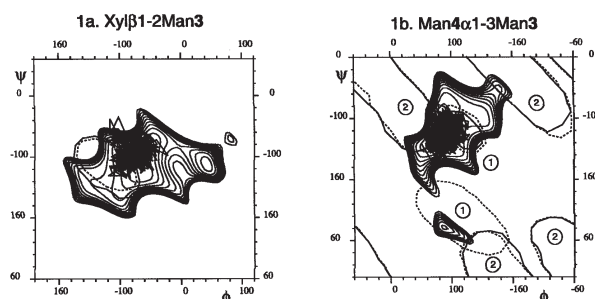
Konformáció

Az élettani funkciókat meghatározó molekuláris kölcsönhatásokban a molekulák téralkatának (konformációjának) kitüntetett szerepe van. Oligo- és poliszaccharidok konformációja a glikozidos kötés körüli rotamer-eloszlástól függ. A konformációs analízis célja tehát az eloszlásra jellemző ϕ ($\text{O}5'-\text{C}1'-\text{O}-\text{C}_n$) és ψ ($\text{C}1'-\text{O}-\text{C}_n-\text{C}_{n+1}$) torziós szögek meghatározása [háromkötéses interglikozidos kapcsolat, pl. $1\rightarrow6$ glikozidok, esetén egy harmadik torziós szöget (ω) is meg kell adni. Az integlikozidos kötés folyadékfázisban általában flexibilis, ill. legtöbb esetben fiziológiás körülmények között is (kivételet képeznek a szilárd állapotú váz-poliszaccharidok, mint pl. a cellulóz, vagy a kitin), a monoszaccharid-egységek két (ill. három) kötés körül elforoghatnak. Az eloszlás nem egyenletes, vannak energetikailag kitüntetett konformációk ill. konformer-családok. Ezek megkeresése és jellemzése kísérleti (első sorban NMR) adatok és elméleti számítások együttes alkalmazásával történik. Előbbiek az utóbbiak számára kényszerfeltételként (azaz a számítási eljárásokban felhasznált adatként), vagy a számított eredmény ellenőrzésének eszközeként („visszaszámolható” paraméterként) jelennek meg. A molekulamodellezési, számítási eljárásokra itt nincs mód kitérni még vázlatosan sem; a megközelítés szintje az *ab initio*-tól a különböző molekulamechanikai erőterek alkalmazásáig igen változatos. E vonatkozásokról a részletek iránt érdeklődő olvasó bőseges tájékoztatást talál a téma legfrissebb irodalmában^{32,33}.

Az NMR kísérleti adatok lényegében két csoportba sorolhatók: a skaláris spin-spin csatolási állandók a kémiai kötésekben át működő, az NOE/ROE kontaktusok pedig a közvetlen, téren át ható kölcsönhatásokat közvetítik. Ez az eszköztár az utóbbi időkben kibővült a gyengén orientált (pl. folyadékkristályos) rendszerekben mérhető maradék dipoláris csatolásokkal³⁴, amelyek szintén az utóbbi kategóriába tartoznak. A skaláris spin-spin csatolások a megfelelő Karplus egyenletek segítségével a torziós szögekről, a téren át működő kölcsönhatások révén a *mag-mag távolságokról* kapunk információt.

Nagy irodalom foglalkozik az interglikozidos kötés pillératomjai (pontosabban: magjai) között mért háromkötéses proton-szén csatolási állandók alkalmazásával: általában két ilyen adat mérhető: $^3J_{\text{H}1,\text{C}_n}$ és $^3J_{\text{C}1,\text{H}_n}$. Előbbi a ϕ , utóbbi a ψ torziós szögről tudósít³⁵. Vizsgálták 3-kötéses ^{13}C - ^{13}C csatolások felhasználását is erre a célra³⁶. A glikozidos kötéssel összekapcsolt C-H csoportok protonjai ($\text{C}1'-\text{H}1'-\text{O}-\text{C}_n\text{H}_n$) között általában mindig mérhető NOE (vagy ROE) kölcsönhatás, függetlenül az anomer-konfigurációtól³⁷. A megfelelő protonok közötti távolság, és így az NOE (ROE) nagysága is, természetesen változik a C-O-kötések körüli elfordulással, azaz függ a konformációtól, azonban az így behatárolt konformációs tér meglehetősen nagy, önmagában nem elegendő a rotamer-eloszlás meghatározásához. A konformációs tér szűkítéséhez több NOE-kölcsönhatásra lenne szükség a szomszédos egységek protonjai között, azonban az NOE meredek távolságfüggése (r^{-6}) ilyen

kontaktusok csak ritkán észlelhetők. A glikozidos kötésen át ható NOE/ROE adatokat e korlátok ellenére is széles körben alkalmazzák, molekulamodellezési számításokkal összekapcsolva, oligoszaccharidok konformációjának vizsgálatára. Ennek illusztrálására a 8. ábrán bemutatjuk egy hexaszaccharid teljes konformációs analízisének³⁸ egy részeredményét.



8. Ábra. Az α -D-Manp(1 \rightarrow 3)- β -D-Manp(1 \rightarrow 4)[α -D-Manp(1 \rightarrow 6), β -D-Xylp(1 \rightarrow 2)]- β -D-GlcNAcp(1 \rightarrow 4)- β -D-GlcNAc (1 \rightarrow OMe) hexaszaccharid jelzett interglikozidos kötéseire számolt ϕ/ψ -energiafelületek (szintvonalak: HSEA-közelítés), ill. a ϕ/ψ torziós szögek változása (cikk-cakk vonalak) rövid (50 ps) molekuláris dinamikai (MD) szimulációk során³⁸

A ^{13}C kémiai eltolódások érzékenyek a glikozidos ϕ/ψ torziós szögek változására⁴⁰. Ezt a megfigyelést újabban sikerrel alkalmazták ciklodextrinek és zárványkomplexeik konformációs analízisében³⁹.

Fentiekben néhány (szubjektíven válogatott) példa kapcsán kíséreltünk meg képet adni az NMR spektroszkópia alkalmazásairól a szénhidrátok területén. A kép mintegy madártávlati: szükségszerűen vázlatos, és hiányos. A témában elmélyülni szándékozó olvasónak a már idézett összefoglalókon kívül K. Bock és mtsai. kitűnő áttekintő cikkét²⁸, vagy egy nemrég megjelent könyvet⁴¹ tudunk figyelmébe ajánlani.

Irodalom

1. Karplus, M. *J. Chem. Phys.* **1959**, *30*, 11.
2. Lemieux, R.U.; Kullnig, R.K.; Bernstein, H.J.; Schneider, W.G. *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, *79*, 1005.
3. Shoolery, J.N. *Prog. NMR Spectr.* **1995**, *28*, 37.
4. Saunders, M.; Wishnia, A.; Kirkwood, J.G. *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, *79*, 3289.
5. Cohen, J.S.; Jaroszewski, J.W.; Kaplan, O.; Ruiz-Cabello, J.; Collier, S.W. *Prog. NMR Spectr.* **1995**, *28*, 53.
6. Szilágyi, L. *Steric Aspects of Biomolecular Interactions*, CRC Press: Boca Raton, **1987**, 45.
7. Wüthrich, K. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 3340.
8. Jardetzky, O.; Roberts, G.C.K. *NMR in Molecular Biology*, Acad. Press: New York, **1981**, 9.
9. Wüthrich, K.; Wider, G.; Wagner, G.; Braun, W. *J. Mol. Biol.* **1982**, *155*, 311.
10. Sattler, M.; Schleucher, J.; Griesinger, C. *Prog. NMR Spectr.* **1999**, *34*, 93.
11. Mechref, Y.; Novotny, M. *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 321.
12. du Penhoat, C.H.; Gey, C.; Pellerin, P.; Perez, S. *J. Biomol. NMR* **1999**, *14*, 253.
13. Matter, H.; Szilágyi, L.; Forgó, P.; Marinic, Z.; Klaic, B. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 2212.
14. Kövér, K.E.; Fehér, K.; Szilágyi, L.; Borbás, A.; Herczegh, P.; Lipták, A. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 393.

15. Vliegthart, JFG.; Dorland, L.; van Halbeek, H. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1983**, *41*, 209.
16. Rutherford, TJ.; Homans, SW. *J. Magn. Reson.* **1995**, *106*, 10.
17. Perlin, AS.; Casu, B. *Tetrahedron Lett.* **1969**, 2921.
18. Bock, K.; Pedersen, C. *J. Chem. Soc. Perkin 2* **1974**, 293.
19. Szilágyi, L.; Györgydeák, Z. *Carbohydr. Res.* **1985**, *143*, 21.
20. Szilágyi, L.; Forgó, P. *Carbohydr. Res.* **1993**, *247*, 129.
21. Jones, DNM.; Bendiak, B. *J. Biomol. NMR* **1999**, *15*, 157.
22. Szilágyi L.; Illyés TZ.; Herczegh P. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 3901.
23. Kjellberg, A.; Nishida, T.; Weintraub, A.; Widmalm, G. *Magn. Reson. Chem.* **1998**, *36*, 128.
24. Sheng, S.; Cherniak, R. *Carbohydr. Res.* **1997**, *301*, 33.
25. Wüthrich, K. *NMR of Proteins and Nucleic Acids*, Wiley-Interscience: New York, 1986.
26. Vincent, SJF.; Zwahlen, C. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 8307.
27. Lipkind, GM.; Shashkov, AS.; Knirel, YA.; Vinogradov, EV.; Kochetkov, NK. *Carbohydr. Res.* **1988**, *175*, 59.
28. Duus, JO.; Gotfredsen, CH.; Bock, K. *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 4589.
29. Radomski, JP.; van Halbeek, H.; Meyer, B. (1994): *Nature Struct. Biol.*, *1*, 217.
30. Szilágyi, L. *Progr. NMR Spectr.* **1995**, *27*, 325.
31. Sternberg U.; Koch FT.; Priess W.; Witter R. *Cellulose* **2003**, *10*, 189.
32. Imberty, A.; Pérez, S. *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 4567.
33. Imberty, A.; Engelsens, SB.; Tvaroska, I.; Defaye, J. *Carbohydr. Res.* **2004**, *339*, 905-1020.
34. Azurmendi, HF.; Bush, CA. *Carbohydr. Res.* **2002**, *337*, 905.
35. Wormald, MR.; Petrescu, AJ.; Pao, Y-L.; Glithero, A.; Elliott, T.; Dwek, RA. *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 371.
36. Xu, Q.; Bush, AC. *Carbohydr. Res.* **1998**, *306*, 335.
37. Homans, SW. *Progr. NMR Spectr.* **1990**, *22*, 55.
38. Lommerse, JPM.; van Rooijen, JM.; Kroon-Batenburg, LMJ.; Kammerling, JP.; Vliegthart, JFG. *Carbohydr. Res.* **2002**, *337*, 2279.
39. O'Brien, EP.; Moyna, G. *Carbohydr. Res.* **2004**, *339*, 87.
40. Jarvis, MC. *Carbohydr. Res.* **1994**, *259*, 311.
41. Jiménez-Barbero, J. *NMR Spectroscopy of Glycoconjugates*, Wiley-VCH: Weinheim, 2003.

Anizotrópfázisú NMR. Mérések szilárd és részlegesen rendezett fázisban

Szalontai Gábor, a kémiai tudományok doktora

Veszprémi Egyetem, NMR laboratórium

gabor.szalontai@sparc4.mars.vein.hu

Bevezetés

Különböző okok miatt az NMR mérések nagyobb része napjainkban is izotróp (folyadék) fázisban történik. Ilyen körülmények között a spektrumokban az anizotróp (irányfüggő) NMR kölcsönhatásoknak (kémiai árnyékolás, skaláris és dipoláris csatolások, kvadrupoláris hatás) csak az ún. izotróp része jelenik meg, ami vagy a három tériránynak megfelelő komponensek átlagértéke (kémiai árnyékolás, skaláris csatolás) vagy nem tartalmazza a gyors molekuláris mozgások következtében „zérusnyomú” anizotróp hozzájárulásokat (dipoláris csatolások, kvadrupoláris felhasadás). Mindezeknek persze kellemes következménye, hogy spektrumok „egyszerűbbek”, ugyanakkor a leegyszerűsödés természetesen információvesztéssel jár.

Az anizotrópfázisú (szilárd és folyadékkristályos) mérések rohamos terjedésének legfőbb oka, hogy bár elkészítésük és értelmezésük bonyolultabb, de igen értékes többlet információt nyújtanak a folyadékfázisúakhoz képest, hiszen az adott minta teljes tömegének tényleges állapotáról tudósítanak.

Jelen közlemény célja, hogy felhívja a figyelmet általában az anizotrópfázisú mérésekre és kiemelten bizonyos szilárd és folyadékkristályos mérésekre, eljárásokra, amelyek hasznosak lehetnek a szélesebb vegyész és biológus társadalom számára is. Nem cél ugyanakkor a szilárd- és részlegesen rendezett fázisú eljárások elméletének általánosabb vagy a lehetséges alkalmazások kimerítő ismertetése azok nagy száma miatt.

Anizotróp kölcsönhatások

Minden fontos kölcsönhatás (kémiai árnyékolás, dipoláris csatolás, skaláris csatolások, kvadrupoláris felhasadás) irányfüggő¹, az anizotróp hozzájárulás mértékét meghatározó vonatkoztatási irány, amelyhez képest vizsgáljuk az adott kölcsönhatást leíró tenzor irányultságát, minden esetben a külső mágneses tér, B_0 iránya.

Mérések szilárd fázisban

A nagyfelbontású spektrum elérése az anizotróp effektusok törlése által érhető el, erre lehetőséget ad az irányfüggést leíró kifejezés ($3\cos^2\theta - 1$) azonos volta az összes kölcsönhatás esetében². A minta igen gyorsan forgatását először R. Andrew javasolta még 1958-ban³, amely azóta MAS (Magic Angle Spinning) néven a szilárdfázisú eljárások alapkísérletévé vált. Valójában az izotróp fázisban fennálló mozgások részleges szimulációját jelenti azáltal, hogy forgási szimmetriákat hoz létre. Az

eljárás akkor igazán hatásos, ha sikerül a mintát a jelenlévő legnagyobb kölcsönhatás méreténél is nagyobb sebességgel forgatni, ilyenkor ugyanis már nem jelentkeznek zavaró forgási oldalsávok a spektrumban.

Ez a napjainkban rutinszerűen elérhető forgatási sebességeket (4 mm-es rotorok esetében 14-20 kHz) figyelembe véve azt jelenti, hogy az **árnyékolási anizotrópiák** gyakran eltüntethetők a spektrumból, a dipoláris csatolások vagy még inkább a kvadrupoláris felhasadás azonban általában nem.

A kapott spektrumok felbontása általában valamivel rosszabb, viszont információtartalma gyakran több mint az izotrópfázisúaké, hiszen azok mindig a molekuláris mozgások átlagát képviselik. Az ún. lassú MAS kísérletekből a forgási oldalsávok intenzitásaiból meghatározhatjuk a három tériránynak megfelelő főkomponenseket, amelyekkel a mag körüli árnyékolás a térben leírható. Ennek feltétele azonban, hogy az árnyékolási tenzor és a molekula koordináta rendszere között viszonyt ismerjünk.

A heteronukleáris **dipoláris csatolások** nagyságrendje (különösen az X-¹H csatolásoké) gyakran nagyobb (20-35 kHz), mint a kémiai árnyékolás anizotrópiája, ezért célszerű az X-mag gerjesztése és mérése alatt szélessávú nagyteljesítményű protonlecsatolást alkalmazni. Erős dipólok közötti homonukleáris csatolások (¹H-¹H, ¹⁹F-¹⁹F) értéke elérheti a 80-100 kHz-et is, ezért megszüntetésük különösen nagy forgatási sebességet és ezzel párhuzamosan „spintérátlagolást” (CRAMPS)⁴ is kíván.

A **skaláris csatolások** anizotrópiája kicsi, általában elhanyagolható, csak több ezer Hz feletti izotróp értékek felett érdemes számolni vele.

Ezzel szemben a **kvadrupoláris felhasadás** több tíz MHz nagyságot is elérhet, ami nyilvánvalóan nem „pörgethető ki”, ráadásul a feles spinű magok (pl. ²⁷Al, ⁶⁵Cu, ⁵⁹Co, ... stb.) spektrumaiban az izotróp jeleken ún. másodrendű kvadrupoláris torzulások jelennek meg, amelyeket a MAS kísérlet sem tud megszüntetni.

Minden „óvintézkedés” ellenére az 1/2-es spinű magok spektrumaiban is a szokásos jelszélesség általában 50-100 között van, kvadrupól magok esetében ennél jóval nagyobb is lehet, pl. a másodrendű kvadrupól effektus miatt⁵, amelyet a MAS kísérlet nem tud kiátlagolni feles spinű magok esetében ($I=3/2, 5/2, 7/2$ stb.).

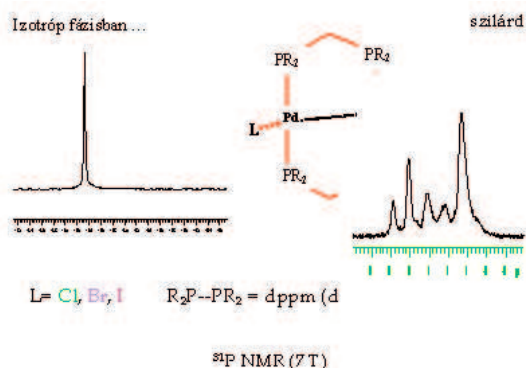
Mindeztidáig nem említettük azokat az okokat, amelyek a minta jellegéből adódnak, ilyen például pormintákban

a kémiai eltolódásértékek szóródása (diszperziója), ami a kismértékben eltérő környezetek következménye. Polikristályos anyagok esetében a nagyobb rendezettség általában kisebb szóródást jelent, emiatt lényegesen élesebb jeleket kapunk.

Szokatlan, de hasznos szilárdfázisú effektusok

A továbbiakban néhány olyan jelenségre hívjuk fel a figyelmet, amelyek segítségével hasznos többlet információk nyerhetők. Ezek mindegyike a szilárd fázishoz köthető abban az értelemben, hogy folyadékfázisú spektrumokban általában nem, vagy csak nagyon csökkentett mértékben jelennek meg.

Lokális szimmetriák jelentkezése: folyadékfázisú mérésekhez szokott kutatóknak általában az észlelt szimmetriaviszonyok megváltozása (a szimmetria csökkenése) okozza az első meglepetést szilárdfázisú spektrumok tanulmányozása során. A kémiai és mágneses ekvivalencia feltételei itt szigorúbbak, csak krisztallográfiailag azonos magok esetén várható azonos kémiai eltolódás, a mágneses ekvivalencia feltételei még keményebbek, ez utóbbi egy MAS kísérletben csak akkor áll fenn két mag között, ha forgás minden pillanatában nemcsak a két árnyékolási tenzor nagysága, hanem iránya is azonos ⁶.

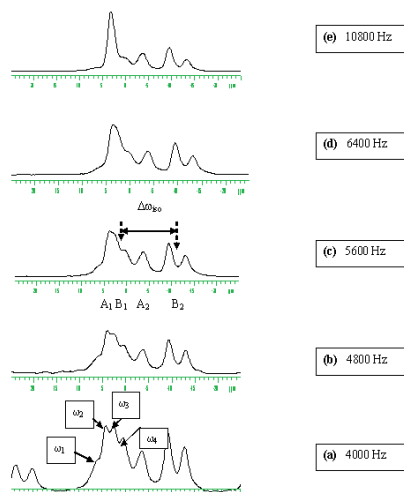


1. Ábra. Szimmetriaviszonyok folyadék és szilárd fázisban (a helyi szimmetriák szerepe). $\text{Pd}_2\text{dppm}_2\text{Cl}_2$: a folyadék fázisban észlelt A_4 spektrum helyett szilárd fázisban négy eltérő kémiai eltolódású foszfort

J-újracsatolás kémiaiilag azonos magok között: közismert, hogy folyadék fázisban egy A_2 spinrendszer magjai közötti csatolás nem jelenik meg a spektrumban (a szélső átmenetek betöltöttségi valószínűsége nulla).

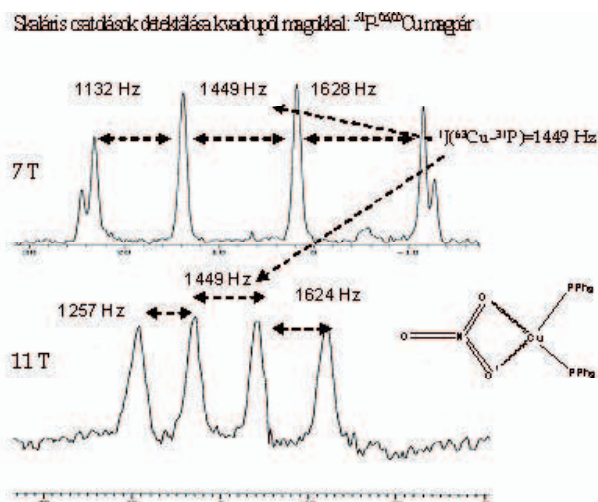
A valós rotációs-rezonancia kísérletek kiterjesztéseként is felfogható ún. nulladrendű rotációs-rezonancia esetén ⁷ (kémiai eltolódásban nem vagy alig különböző skalárisan csatolt magpárokról van szó) a MAS spektrum a forgatási sebességtől függően változni fog. Alacsony forgatási sebesség tartományban egy ún. „szokatlan” AB rendszer jelenik meg, ahol az első és a harmadik vonal különbsége megadja a két mag keresett csatolási állandóját. Magasabb forgatási sebességek esetében a felhasadás megszűnik, és a spektrum egyszerűsödik. A jelenség csak dipolárisan is csatolt magok között lép fel.

Skaláris csatolások kvadrupól magokkal: folyadék fázisban a gyorsan relaxáló kvadrupól magok általában „önlecsatolják”



2. Ábra. ($\text{Pd}_2\text{I}_2\text{dppm}_2$): ^{31}P MAS spektrumok különböző forgatási sebességek mellett felvéve. Az A_1B_1 és A_2B_2 *transz* párok kémiai eltolódáskülönbségei kb. 100 és 400 Hz. Ennek megfelelően csak az előbbi mutatja a J-újracsatolás jelenséget ($\omega_1 - \omega_3 = 450\text{ Hz}$, $\omega_1 - \omega_2 = 230\text{ Hz}$! $J_{A_1B_1} \sim 450\text{ Hz}$!). A *cisz* párok (B_1B_2 és A_1A_2) ilyen forgatási sebességek mellett távol vannak a valós rotációs-rezonancia feltételtől ($\Delta\omega_{\text{iso}} = 1600 = n \times \omega_{\text{forgás}}\text{ Hz}$) ⁷, ezért további felhasadásokat nem észlelünk.

magukat az $1/2$ -es spinű magokról, emiatt a fontos szerkezeti információt hordozó skaláris csatolás elvész. Szilárd fázisban a lelassuló relaxáció gyakran lehetővé teszi ezen csatolások közvetlen észlelését. A szabályos multipliett szerkezetre „rárakódhatnak” másodrendű kvadrupoláris eltolódások is (lásd alább).



3. Ábra. Skaláris csatolás egy $1/2$ -es és egy kvadrupól mag között: $\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2\text{NO}_3$ ^{31}P MAS spektrumai 7 és 11 Tesla térerőn felvéve. Eredeti közlés 7 T-eslán [Veeman, JMR. 1982 (1.4-7.0 T)]. Látható, hogy a térerő növelésével a külső felhasadások is közelítik a belső értékét azaz a tényleges J csatolást a két mag között.

Maradék kvadrupoláris effektusok $1/2$ -es spin magok spektrumaiban: dipolárisan is csatolt (általában a közvetlenül kötött) magok között gyakran lép fel a MAS által teljesen ki nem átlagolt dipoláris hatások által közvetített másodrendű kvadrupoláris hatás ⁹. A skaláris csatolás által meghatározott átmenetek elmozdulnak (másodrendű kvadrupoláris eltolódás), és az egyes magpárookra jellemző multipliett szerkezetet mutatnak. Az effektus nagyobb térerők esetén

csökken illetve meg is szűnhet. A bemutatott példák némileg eltérő ^{31}P – ^{59}Co magpárookra vonatkoznak 10 (lásd 4.ábra), ahol a ^{31}P MAS spektrumban az eltérő kobalt relaxáció függvényében eltérő mértékű felbontásokat észlelünk, amelyek a kobalt-59 mag 7/2-es spinjének köszönhető nyolc vonalra épülnek rá, illetve azok helyét módosítják.

Mérések részlegesen rendezett (folyadékkristályos) fázisban

Rendezettség NMR-es szemmel 11,12 : valójában általában nagyon kis mértékű rendezettségéről van szó. Számszerű mértékét az ún. rendparaméter $^3S = (\frac{1}{2} \langle 3\cos^2\theta - 1 \rangle)$ fejezi ki, melynek értéke 1 és -0,5 között változik a külső térrel párhuzamos, illetve az arra merőleges rendezettségnek megfelelően. A θ szög a kérdéses kölcsönhatás főirányának a külső mágneses térrel alkotott szögét jelenti. A folyadékkristályos fázist alkotó molekulák tengelye (direktora) a közeg szuszceptibilitás anizotrópiájának előjelétől függően egybeesik vagy merőleges a B_0 tér irányával (5.ábra). A szóhajóható kölcsönhatások szilárd, folyadékkristályos és folyadékfázisban várható nagyságát a következő táblázatban foglaltuk össze.

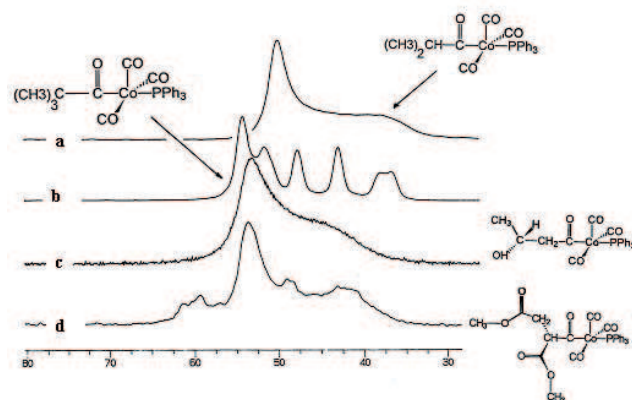
1.Táblázat. A kölcsönhatások nagyságrendje folyadék, folyadékkristályos és szilárd fázisban. Várható különbségek (R-S) az enantiomerek között.

Fázis/ kölcsönhatás	Szilárd fázis	Liotróp folyadékkristályos fázis (R vagy -S)	Folyadék fázis
Árnyékolási anizotrópia, $\Delta\sigma$	^{13}C : 30-400 [ppm]	$R \neq S$ ^{13}C : 3-12 Hz	0 Hz
Kvadrupoláris felhasadás, Q	2-10 MHz	$R \neq S$ 10-5000 Hz	0 Hz
Skaláris csatolás, J	^{13}C - ^1H =110-280 Hz	$J \approx J_{\text{iso}}$	$J = J_{\text{iso}}$
Maradék felhasadás = $2D + J_{\text{iso}}$			
Dipoláris csatolás, D	^{13}C - ^1H =10-80 kHz	$R \neq S$ ^{13}C - ^1H =0-10 Hz	$D=0$

Látható, hogy igen eltérő nagyságrendű effektusokról van szó, ezért célszerű a megfelelő *kölcsönhatás – rendezettség mérték* párosítás gondos kiválasztása. Ezek közül néhány:

- nagy rendezettség (termotróp) - kisebb effektus (dipoláris) párosítás
- kis rendezettség (nematikus liotróp) - nagy effektus (kvadrupól) párosítás

A bemutatott példák az utóbbira vonatkoznak, ahol egy királis poliaminosav (poli- γ -benzil-L- glutamát, PBLG) segédoldószerekkel (pl. CH_2Cl_2 vagy CHCl_3) hoz létre kisrendezettségű nematikus folyadékkristályos fázist, amelyben a dipoláris és kémiai eltolódási effektusok maradék anizotróp értéke gyakorlatilag nulla, ezért nem észlelhetők a spektrumokban, ezzel szemben a maradék kvadrupoláris felhasadás mértéke néhány Hz-től néhány ezer Hz-ig terjed.

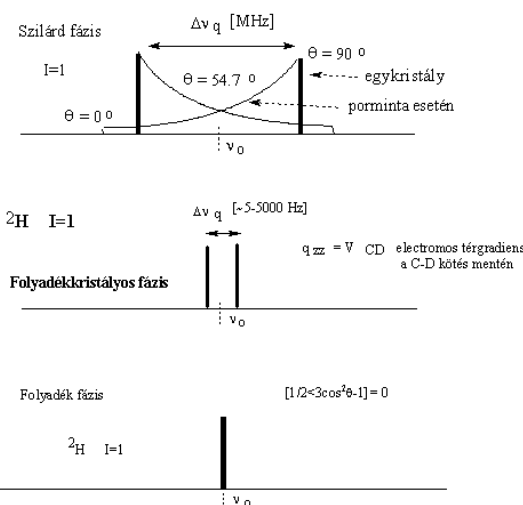


4.Ábra. Másodrendű maradék kvadrupoláris hatások jelentkezése, ^{31}P - ^{59}Co magpárok vizsgálatai. A spektrumokban a kobalt mag relaxációs szintjétől függően jelentkezik a skaláris csatolás (8 átmenet a J csatolásokkal elválasztva) és a ráakadó maradék kvadrupoláris felhasadás együtt. A b esetben sikerült a spektrum dekonvolúciójával a ^{31}P - ^{59}Co izotróp csatolási állandó értékét (241 Hz) meghatározni.

Maradék kvadrupoláris felhasadások: a nematikus fázisban elhelyezkedő „vendégmolekulák” helyzetét az 5., a szilárd, folyadékkristályos és izotróp fázisban várható képet egy $I=1$ -es spinű mag esetében pedig a 6. ábrán foglaltuk össze.

$$\text{felhasadás} = \Delta\nu_Q = \frac{3e^2Qq}{4h} \langle 3\cos^2\theta - 1 \rangle$$

Q =kvadrupólus momentum / 10^{-28} m^2 q_{zz} =elektromos tégradiens, $\theta = B_0$ és q_{zz} által bezárt szög



5.Ábra. Akvadrupoláris kölcsönhatás megjelenése szilárd, folyadékkristályos és folyadék fázisban. A folyadékkristályos fázisban várható 5-5000 Hz közötti felhasadás még gyenge rendezettség esetében (pl. liotróp nematikus rendszerek) is lehetővé teszi pl. enantiomerek megkülönböztetését.

H NMR alkalmazások: kis és közepes molekulák (<500 D) vizsgálati (nagyobb molekulák esetében a deutérium relaxáció jelentősen felgyorsul, ami szobahőmérsékleten komoly jelszélesedéseket eredményez).

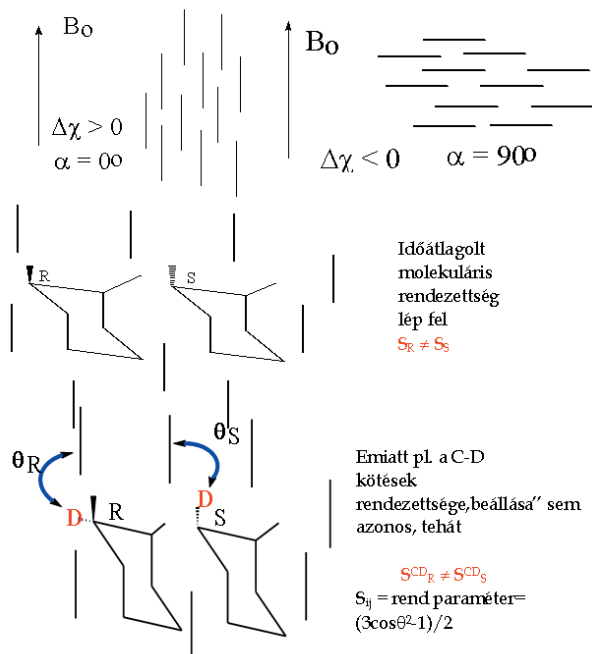
Optikai tisztaság meghatározás (7-8. ábrák): részlegesen (de lehetőleg az aszimmetriacentrum közelében), akár csak néhány százalékban deutériált minták is megfelelnek erre a célra. A királis fázisban a C-D kötések (s így az ezzel gyakorlatilag egybeeső ^2H kvadrupoláris tenzor is)

iránya el fog térni a két enantiomer esetében, emiatt eltérő nagyságú maradék kvadrupoláris felhasadást kapunk a két enantiomerre.

Részleges rendezettség nematikus folyadékkristályos fázisban B_0 mágneses térben. A szabadenergiacsökkenés

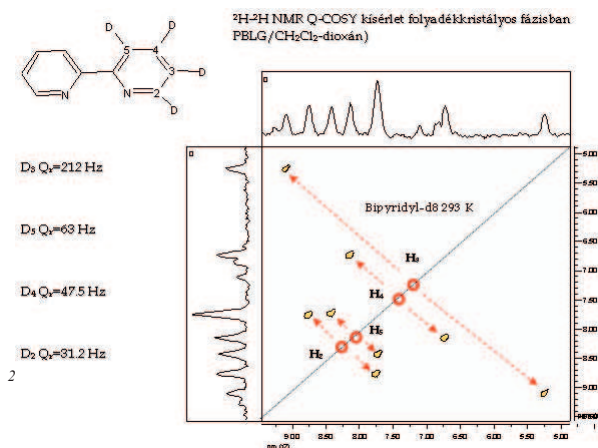
$$G = -\Delta\chi B_0^2 (3 \cos^2 \alpha - 1) / 6$$

α a direktor és B_0 közötti szög, $\Delta\chi$ a szuszceptibilitás anizotrópiája

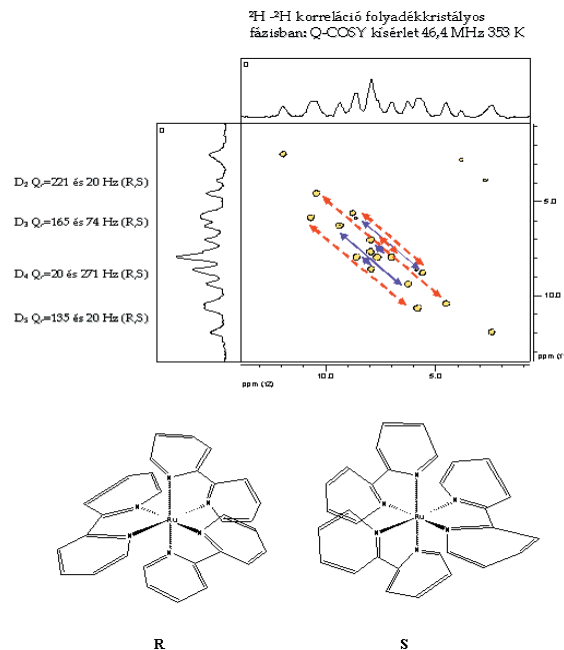


6.Ábra. Vendégmolekulák várható viselkedése nematikus fázisban

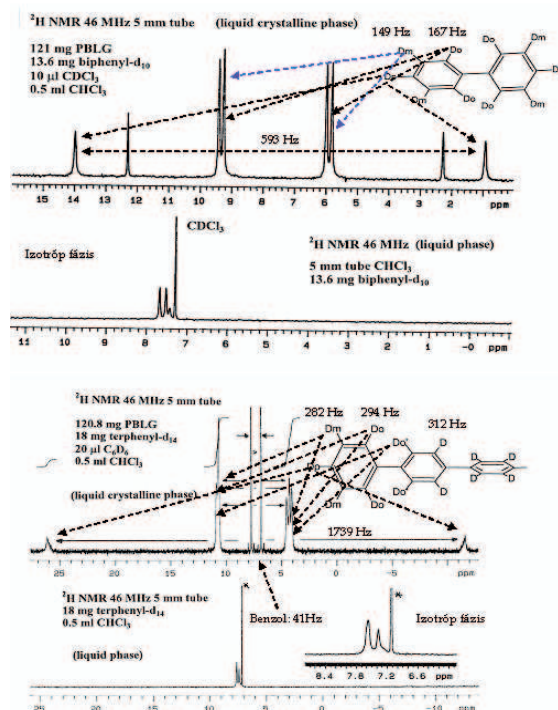
A kiválasztott mag a deutérium, talán az egyik legérdekesebb NMR aktív mag, *amfoter* abban az értelemben, hogy bár kvadrupól, de csak igen gyengén ($Q = 2,7 \cdot 10^{-3} \text{ m}^2$), ezért kisebb molekulák esetében a dipoláris magokét megközelítő félérték szélességeket mutat, amely emelt hőmérsékleten tovább csökkenthető. Nagy kár, hogy természetes előfordulása egy kicsit alacsony (0.1 %), de



7. Ábra. Egy perdeuterált akirális ligandum ($2,2'$ -bipiridil- d_8) viselkedése királis liotróp nematikus közegben (Poli- γ -Benzil-L-Glutamát-dioxán- CH_2Cl_2 =120 mg-0,4ml-0,2ml). ^2H - ^1H Q-COSY kísérlet (46.2 MHz, 293 K)¹⁴ biztosítja az összetartozó magpárok egyértelmű azonosítását. A maradék kvadrupoláris felhasadások mértéke 31 és 212 Hz között változik. A szükséges mérési idő kb. 1 perc.

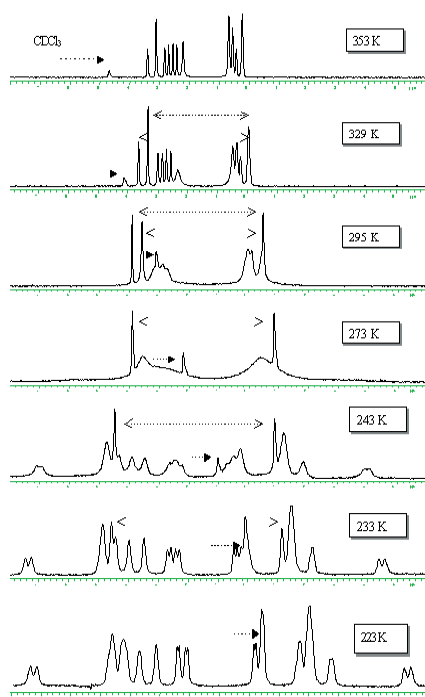


8. Ábra. Három akirális ligandummal ($2,2'$ -bipiridil- d_8) képzett fémén királis Ru komplexek megkülönböztetése királis liotróp nematikus közegben (Poli- γ -Benzil-L-Glutamát-dioxán- CH_2Cl_2 =120 mg-0,4ml-0,2ml). A ^2H - ^1H Q-COSY kísérlet (kb. 3 mg komplex)¹⁴ biztosítja az összetartozó magpárok egyértelmű azonosítását. A maradék kvadrupoláris felhasadások különbsége az enantiomerek esetében 110 és 250 Hz között változik. A szükséges mérési idő kb. 1 perc. (Az eljárás nem ad lehetőséget az abszolút kiralitás meghatározására).

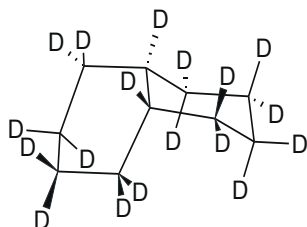


9. Ábra. Perdeuterált bifenil és terfenil molekulák ^2H spektrumai PBLG- CHCl_3 elegyben felvéve. A maradék felhasadások tükrözik a molekula mozgásának anizotrópiáját. A *para*-deutériumokra kapott 593 (bifenil) és 1739 (terfenil) Hz -es értékek egyértelműen igazolják a preferált hossz tengely menti forgást¹⁶.

egyszerű kétdimenziós eljárásokkal ma már természetes bőségű mintákból is készíthető olyan térkép (pszeudo ^2H - ^2H korreláció), amelyből a keresett maradék felhasadások dublettjei kiválaszthatóak ¹⁴. Anizotróp molekulaformák és mozgások kimutatása ¹⁵ (9 és 10 ábrák): a molekula formája természetesen meghatározza mozgásának anizotrópiáját, így a mért maradék csatolásokban ez is tükröződik. Példaként a benzol, a bifenil és a terfenil spektrumai mutatjuk be. Dinamikus NMR vizsgálatok (dekalin *cisz*–*transz* konformerek ^{17,18}): miután a konformációs és egyéb mozgások esetén változik a C-D kötések iránya, változni fog a spektrum is a hőmérséklettől függően. Azon magok dublettjei, amelyek iránya az átrendeződés alatt nem változik, változatlanok maradnak (lásd 10. ábra). A lehűtés a rendparaméter jelentős növekedését eredményezi, ami nagyon jelentős maradék felhasadásokat jelenthet, a felmelegítés ellentétesen hat.



10.Ábra. A *cisz* dekalin- d_{18} spektrumának hőmérsékletfüggése PBLG- CHCl_3 mezőgáz fázisban felvéve ¹⁷. (46,0 MHz, 293 K). A kétirányú nyilak a csere által nem érintett gyűrűösszekötő szénatomokhoz (lásd 1. képletábra) kötött deutériumokat jelzik.



1.Képletábra. *Cisz* dekalin szerkezete

Cis- és *transz* dekalin: közismert, hogy a két izomer gyökeresen eltérő dinamikus viselkedést mutat (a *cisz* forma *szék-szék* konformerjeinek két királis invertomerje létezik, a *transz* esetében viszont a két *szék-szék* konformer azonos) ez tükröződik a hőmérsékletfüggő spektrumokban is. A *cisz*–dekalin esetében királis formák jönnek létre, ezek is egyértelműen azonosíthatóak (10. ábra). Szobahőmérséklet felett kilenc dublett látható, amelyek aztán lehűtve megkettőződnek a két enantiomernek megfelelően.

Köszönetnyilvánítás

A bemutatott vegyületeket Besenyei Gábor (Pd(I) dimerek), Kovács István (Co-karbonil-foszfin komplexek) és Kovács Margit (deuterált Ru-komplexek) állították elő, köszönet értük. A folyadékkristályos minták elkészítésért Balázs Attilának mondok köszönetet. Rohonczy Jánosnak a 11 Tesla térrőn készített ^{31}P MAS spektrumért. Az anyagi támogatásért (T34335) pedig az OTKA-nak.

Irodalom

- Lewitt, M.H. *Spin-Dynamics*, John Wiley & Sons: Chichester, **2002**.
- Maricq, M.M.; Waugh, J.S. *J.Chem.Phys.* **1979**, *70*, 3300-3016.
- Andrew, E.R.; Bradbury, A.; Eades, R.G. *Nature* **1958**, *182*, 1659.
- Haeblerlen, U.; Waugh, J.S. *Phys.Rev.* **1968**, *175*, 453.
- Freude, D.; Haase J. *NMR Basic Principles and Progress*, Springer-Verlag: Berlin, **1992**, Vol. 29, pp 1-90.
- Dusold, S.; Klaus, E.; Sebal, A.; Baks, M.; Nielsen, N.C. *J.Am.Chem.Soc.* **1997**, *119*, 7121-7129.
- Lewitt, M.H.; Raleigh, D.P.; Creuzet, F.; Griffin, R.G. *J.Chem.Phys.* **1990**, *92*, 6347-6364.
- Menger, E.M.; Veeman, S. *J.Magn.Reson.* **1982**, *46*, 435.
- Harris, R.K.; Olivieri, A.C. *Progress in NMR Spectroscopy* **1992**, *24*, 435-456.
- Szalontai, G. *Monatshefte f. Chemie* **2002**, *133*, 1575-1586.
- Emsley, J.W.; Lindon, J.C. *NMR Spectroscopy using liquid crystal solvents*, Pergamon Press: Oxford, **1975**.
- Yong, R.D. *NMR of Liquid Crystals*, Springer: Berlin, **1999**.
- Suryaprakash, N. *Concepts in Magn.Resonance* **1998**, *10*, 167-192.
- Merlet, D.; Ancien, B.; Courtieu, J.; Lesot, P. *J.Am.Chem.Soc.* **1997**, *121*, 5249.
- Rumell, E.E.; Lange, C.A. *Chem.Rev.* **1998**, *98*, 2359-2367.
- Szalontai, G. *Magn.Res.Chem.* **2000**, *38*, 872-876.
- Szalontai, G. *Eur.Org.Chem.* **2001**, 3511-3518.
- Sarfati, M.; Aroulanda, C.; Courtieu, J.; Lesot, P. *Tetrahedron-Asymmetry* **2001**, *12*, 737-744.

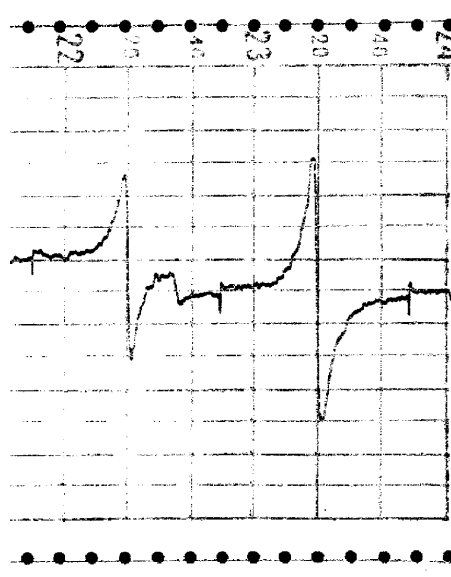
A magyarországi NMR-kutatások kezdetei

Tompa Kálmán, a fizikai tudományok doktora
MTA Szilárdtestfizikai és Optikai Kutatóintézete, Budapest
tompa@power.szfi.hu

Jó közelítéssel, fél évszázada, hogy elkezdődött a tevékenység a fent nevezett kutatóintézet jogelődjének egyik osztályán, az Elektromágneses Hullámok Osztályán, illetve induláskor annak gyökereit tartó Gyakorlati Fizikai Intézetben az Eötvös Lóránd Tudomány Egyetem Természettudományi Karán. A kettős eredet csak látszatra bonyolult; átmenetileg mindkét helyen ugyanazok a kutatók tették meg a kezdő lépéseket, Faragó Péter vezetésével Gécs Mária (később Erőné Gécs Mária) és Mertz János. A gondolat – miszerint az eszközháttérrel illetően, itthon is eredményesen művelhető kutatás elinduljon – Bay Zoltántól származott. A javaslattevő személyét illetően több okból nem kell csodálkoznunk, közülük csak azt említjük meg, hogy a második háború alatt ő is ugyanúgy a radartechnikán, azaz a rádióhullámok előállításának és kezelésének sajátos változatán szerzett magas szintű gyakorlatot, mint az NMR módszer felfedezéséért 1952-ben fizikai Nobel-díjjal kitüntetett F. Bloch és E.M. Purcell.

A történelem természetesen csak a tudományág egyetemes történelmének időskáláján ábrázolható; ezen a startgomb hazai megnyomásának pillanata nem pontosan azonosítható. Az eszközépítést követően az első hazai publikációk 1954-ben és 1955-ben ¹⁻³, tehát nyolc illetve, kilenc évvel a Nobel-díjas dolgozatok megjelenése után kerültek a világ szeme elé. Az említett első dolgozat lábjegyzete szerint az abban megjelenő eredmények 1951-ben az első, a Pécsi Fizikai Vándorgyűlésen már bemutatásra kerültek. Az első dolgozat tehát egy egyszerű, az NMR spektrum abszorpciós módusának detektálására alkalmas eszközt mutat be. A spektrométer további részei: akkumulátorral táplált és toló ellenállással szabályozott, korábban a hallgatói laboratóriumban Faraday effektus mérésére használt elektromágnes, és egy Székesfehérvár melletti repülőgép roncsból Mertz János által kisserelt rádió adóvevőre alapozott rádióhullám forrás. Az oszcilloszkóp ernyőn bemutatott NMR jel feltehetően víz protonoktól származik. A második és harmadik dolgozatban ¹⁹F, ²³Na és ³¹P magok giromágneses faktorának a pontos újra mérése volt a cél, az illető magok NMR jelének a detektálásán túl. Mindez a kísérleti technika továbbfejlesztését is igényelte (elektromágnes, váltóáramú kettős-T híd). A cél tehát egyértelműen magfizikai, hasonlóan az első periódus másutt is követett célkitűzéseihöz.

A következő periódus jellemzéséhez szükséges felidézni 1956 történelmi léptékű változását az országban, a változást az Elektromágneses Hullámok Osztálya élén, Hoffman Tibor lett az osztályvezető, és a változást a kutatói csapatban. Valószínű, még Faragó Péter kezdeményezésének folytatásaként, folyt egy, akkori léptékben merész kísérlet előkészítése: Overhauser effektus ⁴ kísérleti demonstrálása nemfém mintában. (1. ábra)



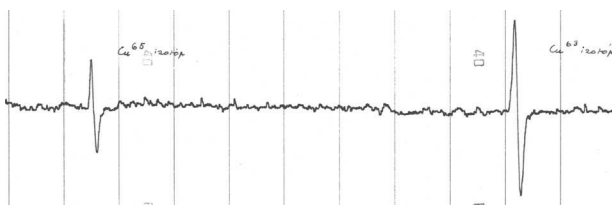
1. Ábra. Overhauser effektus szabad gyököt tartalmazó DPPH minta proton NMR spektrumában. A kisebb intenzitású derivált spektrum mikrohullámú telítés nélkül, a nagyobb elektron rezonanciátelítéssel

Alapjaiban H.G. Beljers és munkatársai által végzett kísérlet ⁵ reprodukciója, szerényebb kísérleti körülmények között. A vizsgált anyag a stabil szabad gyököt tartalmazó difenil-pikril-hidrazil (DPPH), és a cél a polarizáció átvitele a telített elektron spin rendszerről a telítetlen proton spin rendszerre. Mindkét spin $\frac{1}{2}$, és az ellentétes előjelű giromágneses faktorok valamint az impulzus momentum megmaradás következtében az elektron spin rendszer relaxációja az alacsonyabb energiájú állapotban lévő protonok számát növeli meg, ami a detektálható NMR jel intenzitás növekedését vonja maga után. A csapat: Mertz János (egy ideig), Tompa Kálmán, Tóth Ferenc, és a kapitány Gécs Mária. Az 1958-59-ben rendelkezésünkre álló és menetközben létrehozott mérés technika: egy klisztron által produkált és koaxiális erősítővel növelt, néhány wattnyi, ~25 cm hullámhosszú mikrohullám, egy TE₁₀₂ módusú, az NMR mérőtekerceszt is tartalmazó üregrezonátor, egy 430 gaussnyi teret előállító elektromágnes, és a már említett váltóáramú híd és generátor. Tóth Ferenc ekkor készíti el az első hazai fázis-érzékeny (lock-in) erősítőt a zajszint alatti jelek láthatóvá tételére. Mindezek együtt és egyszerre is működtek stabilitásuknak megfelelő szinten, negyvenöt évvel ezelőtt; a bizonyíték az 1. ábrán látható; két derivált abszorpciós proton spektrum, az egyik, a kicsi az elektronok segítségével, a nagyobb egy kis külső, mikrohullámú rásegítéssel. Az eredmények kvantitatív értékelésére javasolt magyar nyelvű közleményen ⁶ kívül más publikáció nem született, a „miért nem”-re.

E sorok szerzője nem tud a változásokon és hangsúly eltolódásokon kívül más magyarázatot adni. Pedig, szép

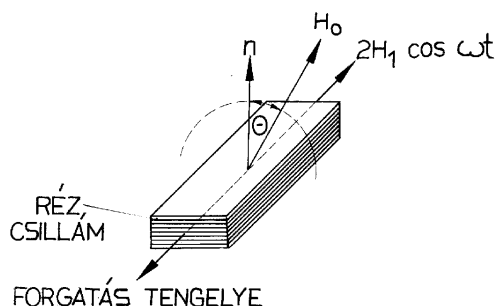
akkori műszaki és kísérleti kutatási teljesítménynek kell a két bemutatott spektrum felvételét most is tartanunk

1959 közepén megszűnt az Elektromágneses Hullámok Osztálya, megalakult a Szilárdtestfizikai Laboratórium, Hoffmann Tibor, Nagy Elemér és Pál Lénárd irányításával elindult kutatási tevékenysége. A Laboratórium keretében Tompa Kálmán és Tóth Ferenc kapták a szilárdtestek vizsgálatára alkalmas NMR berendezés kidolgozásának és szilárdtest-fizikai kutatási alkalmazásának a feladatát. Néhány „nyugati” műszert is kapunk, egy Newport elektromágneset kellően (10^{-5}) stabil tápegységgel, és egy nyolcjegyes Racal digitális frekvenciamérőt. A többi egység itthon készült, közöttük egy stabil Robinson oszcillátor az NMR átmenetek gerjesztésére és detektálására. A spektrométer bemutatására a Magyar Fizikai Folyóiratban került sor ⁷. 1961-62 fordulóján megszületett az első szilárdtest NMR spektrum (2. ábra) a két rézizotópról fém rézben.



2. Ábra. Az első hazai fém mintán felvett NMR spektrum; réz fóliákon folytonos gerjesztéssel felvett derivált spektrumok a ^{63}Cu és ^{65}Cu izotópokon.

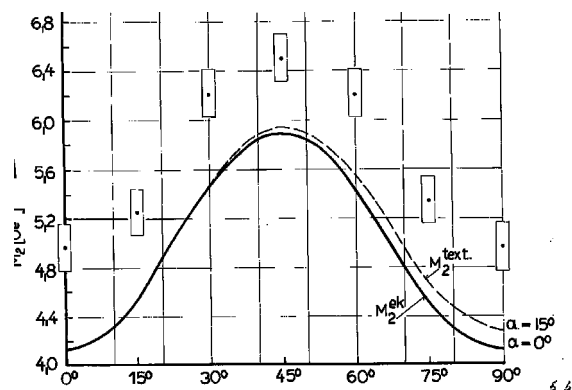
Az anyagmintánk nem szokványos „por minta” hanem egy kitűnő minőségű leporelló-szerűen hajtogatott kondenzátor $10\mu\text{m}$ -es rézfóliáiból kivágott és csillámlemezekkel váltakozva összerakott „fólia rakás” (3. ábra).



3. Ábra. „Fólia rakás” minta: későbbi sikerek forrása.

Később derült ki, hogy a fóliáinkon mérhető NMR intenzitás kb. kétszer nagyobb, mint az ugyanakkora tömegű pormintán kapható, és több mindent köszönhetünk a mintáknak. Egy percre meg kell itt állnunk, pontosabban előbbre kell futnunk a tapasztalatszerzés útján, hogy felhívjuk a figyelmet egy sarok-pontra. Jelesül arra, hogy az anyagtudományi-kísérleti szilárdtest fizikai kutatások alfája a reprodukálhatóan előállítható, megbízható anyagminta. A kérdés az első örömen túlmenően az volt, hogy lehet-e valami újat mondani a már sokat vizsgált fém rézen viszonylag egyszerű eszközökkel, és ha igen, hogyan. A válasz a kérdés második felére nagyon egyszerű: pontosan kell mérni, mint Tyho Brache tette a „csillagokkal”. Ez az igény kísérleti

körülményeink szerénysége következtében, végig kísérte kutatói tevékenységünket. Az öreg kondenzátor sugallta minta következő változataként olyan, „kocka-textúrával” rendelkező rézfóliákat készítettünk, amelyek majdnem egykristályok voltak ⁸, és rajtuk mérve szét tudtuk választani a réz magok által érzett lokális mágneses tér izotróp és anizotróp járulékait (4. ábra).



4. Ábra. Irány-független és irányfüggő járulékok szétválasztása fém réz NMR spektrumában.

Ezt kihasználva, és a két rézizotóp NMR spektrumának második momentumaiban mérhető, a mérési hiba nagyságrendjébe eső különbség alapján meghatároztuk a Ruderman-Kittel (más néven indirekt) csatolási állandó, 200 ± 50 Hz-es értékét. Megemlítjük, hogy a spektrumok kiértékeléséhez szükséges integrálok numerikus kiszámolása már nem kézi-tekerésű géppel, hanem motorral forgatott Cellatronnal, majd URAL-2-vel történt. E.R Andrew a MAS (magic angle spinning, azaz a bűvös szög körüli forgatás) technika megalkotója, egyik első, később publikált eredménye éppen ezen állandó meghatározása volt ⁹. Eredményül, 230 ± 15 Hz-et kapott, és úgy nyilatkozott mérési eredményünket illetően: el sem tudta képzelni, hogy hagyományos módszerrel olyan pontosan is lehet mérni, mint ahogy azt mi tettük.

A továbbiakban a MTA KFKI (ma részbeni jogutódként MTA SZFKI) NMR laboratóriumá-nak további tevékenységéből olyan példákat válogattam, amelyek

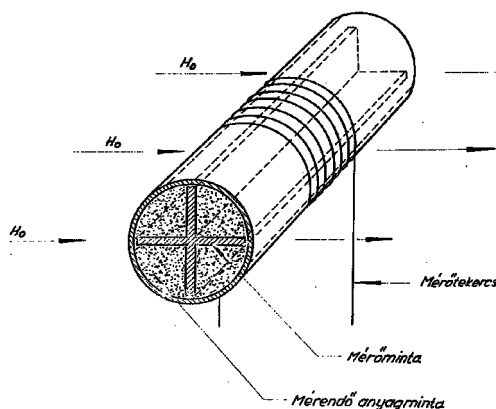
- a célkitűzésnek megfelelően kezdetet jelentenek (módszer, anyagcsalád, jelenség szempontjából, és nemcsak a magyar ugaron),
- homogénnek tekintett, de valójában heterogén rendszerek vizsgálatára vonatkoznak,
- nem egyetlen fizikai/kémiai jellemző mérésén és annak értelmezésén, hanem a kutatás összetett mivoltát illetően több paraméter együttes vizsgálatán alapulnak,
- ma is folytatódnak újabb „szövegkörnyezetben”, nem lezártak, tekintettel arra, hogy a kutatás egyes fázisai csak átmenetileg tekinthetők lezártak.

Az utóbbi három bajusz pedagógiai célzatú, mert „történelmet” írni kizárólag tanítási céllal érdemes. A bemutatást jellegzetes csoportokra bontva végezzük.

Makroszkopikus mágneses jellemzők, és vonaleltolódás

A NMR módszer egyik alapvető adottsága a rezonáns atommag helyén lévő lokális mágneses tér mérése, ami eredetére nézve többféle lehet, pl. kémiai eltolódás, a

fémes anyagok Knight eltolódása, a minta makroszkopikus mágnesezettségéből származó tér-járulékok, stb. Első példánkban, (Grüner György diplomamunkája, ELTE TTK, 1965-66), arra hívtuk fel a figyelmet¹⁰, hogy egy ügyesen megformált rezonáns magokat tartalmazó „kereszt alakú” mintával (5. ábra), amit történetesen antiferromágneses-paramágneses átmenetet mutató MnO környezetbe helyeztünk, nem csak a B és H tér mérhető, hanem azok különbsége is, továbbá a hőmérséklet változtatásával az említett fázisátalakulás is tanulmányozható.



5. Ábra. Kereszt alakú minta: B és H együttes mérésére, azaz a makroszkopikus mágnesezés tanulmányozására.

A minta alakjának a kihasználása a későbbiekben a makroszkopikus szuszceptibilitás és a mikroszkopikus Knight eltolódás egyszerre történő mérését tette lehetővé¹¹ egy fémüveg-hidrogén rendszerben. Az egyszerű kép, miszerint az eltolódás arányos a szuszceptibilitással, (azaz mindkettő az állapotsűrűséggel) kis hidrogén tartalmaknál nem áll fenn itt az eltolódás függetlenné válik a szuszceptibilitástól.

Megtanultuk, elsősorban Mössbauer spektroszkópiai vizsgálatokból, hogy a napi szóhasználat szerinti mágnesezés, pontosan szólva ferromágneses anyagok atommagjainál lévő hiperfinom tér értéke óriási, pl. vas esetében ~ 33T (330 kOe) értékű. Ekkora térben, természetesen külső mágnesezés nélkül alkalmazása nélkül is nagyon szép NMR jel detektálható, a vas izotóp kis előfordulása, kis giromágneses faktora ellenére is. 1972-ben jelenik meg¹² a frekvencia modulált belső-tér mérő berendezésről írt dolgozat, aminek a felhasználásával már meg tudjuk különböztetni a vasba ötvözött kobalt szomszédságában lévő vas atomok magjainál lévő belső tereket¹³. A ferromágneses anyag elemi „domén”-jei a gerjesztő rádióhullám hatására foroghatnak, vagy a közöttük lévő falak eltolódhatnak. Ezek az effektusok lényegesen megnövelik a rezonáns mag helyén lévő rádiófrekvenciás tér intenzitását, a faleltolódás mintegy három nagyságrenddel. Varga Lajos Károly e témakörben írta meg egyetemi doktori dolgozatát (ELTE TTK, 1975)

Az alacsony-spinű magas-spinű elektronspin-átmenetek komplex vizsgálatának első lépését mi tettük meg a hagyományos szuszceptibilitás, a Mössbauer spektroszkópia és az NMR spektrum-szélesség mérésével vas(II)bisz(1,10-fenantrolin)-tiocianáton 1967-ben¹⁴. A jelenség megfigyelése óta fennáll az a kérdés, hogy a mágnesezés átalakulás oka, vagy következménye az anyagban végbemenő szerkezeti

változásoknak, vagy pl. a magas szimmetriájú molekula csoport mozgások befagyásának, beindulásának. A kérdésre több mag több NMR jellemzőjének a mérésével, kiegészítve röntgen és pozitron annihilációs vizsgálatainak alapján kerestük a választ^{15,16,17}.

Híg ötvözetek

A nagytisztaságú fémbe bevitt kevésszámú, nem kölcsönható ötvöző alkotta rendszer a híg-ötvözet, és a hatvanas évek végén, a hetvenes évek elején a szilárdtest kutatások egyik első számú favoritja volt. Rendelkezésünkre állt egy igényes technológia a szükséges anyagminták megbízható előállítására, és izgalmas elméleti modellek az idegen atom környezetében fellépő töltés és spin (mágnesezés momentum)-sűrűséget illetően. Valószínűleg Friedel töltéssűrűség oszcillációra vonatkozó elmélete a legáltalánosabban ismert. Aszimptotikus eredményt ad a töltéssűrűségre, következésképpen a köbös szimmetriát rontó idegen atom által keltett elektromos tér-gradiensre is. Kísérleti adatok csak az idegen atom közvetlen környezetére álltak rendelkezésre, az aszimptotikus tartományra nem. „Fóliarakás” mintáink lehetővé tették az aszimptotikus tartomány vizsgálatát. Kéves platinát tartalmazó nagytisztaságú réz alapú Cu-Pt ötvözetben meglepő eredmény született; egyetlen Pt atom hatását 1900 ± 100 (amit kioltási számnak nevezünk) réz mag érzi, szemben a pre-aszimptotikus tartomány 50 ± 5 atomot tartalmazó hatásgömbjével¹⁸, és Jánosy András diplomamunkája, ELTE TTK, 1966-67). Éppen a híg Al-Ta ötvözetben kapott aszimptotikus eredményeink (kioltási szám 1200) véglegesítésén dolgoztunk¹⁹ amikor megjelent J.M. Brettell és A.J. Heeger (később Nobel-díjas)²⁰ közleménye az Al-Fe és Al-Mn és Al-Cu ötvözeteken mért kevert (pre-aszimptotikus + aszimptotikus tartományok keverékére vonatkozó) eredményekről. Az un. kioltási számok alapjául szolgáló fém reszelékeken mért NMR jelamplitúdó mérési hibáik megközelítően ötszöröse az általunk kapottaknak. A réz alapú híg ötvözeteken végzett szisztematikus vizsgálataink eredményei²¹ J. Friedel jóváhagyásával kerültek közzétételre. Joggal gondolhatjuk, hogy mindez a precíz hazai technológiának, a különböző kísérleti és elméleti módszerekkel együtt végzett kutatásnak, továbbá NMR szempontból a gondosan összerakott fóliarakás mintáinknak köszönhető. Talán nem önteltség kijelenteni, mert az 1972-ben megrendezett nemzetközi konferencia (Tihany) sikere is bizonyítja, ahol majdnem mindenki itt volt, aki számított, hogy a hazai szilárdtest kutatás a világ élvonalában volt. Napjainkban, a nanokristályos anyagok tanulmányozásának korszakában, ugyanezen referencia minták, és több NMR metodika együttes használata segítette megérteni a leegyszerűsítő homogénnek gondolt anyag heterogenitásának néhány kérdését, és meghatározni annak jellemzőit²².

Jelentős technikai előrelépés határozta meg további mozgásunkat; egy 4-100 MHz. frekvencia tartományú nagy homogenitású elektromágnessel és széles hőmérséklet tartományokkal rendelkező Bruker spektrométert kaptunk 1973-ban! Kiegészítésekkel és saját fejlesztésekkel ma is, mint immáron harminc éve, ez a berendezés jelenti kutatásaink alap-készülékét. Következésképpen céljaink meghatározásánál a lehetőségek a mérvadók, és nem pedig a vágyak.

Üvegfémek

P. Duwez és diákjai 1959-ben azzal hívták fel a fémek-világ figyelmét, hogy üvegfémek: hosszú-távú kristálytani renddel nem rendelkező ötvözetet állítottak elő gyors, mondhatjuk nagyon gyors hűtéssel. A hazai technológia, már a gyorsított változat mellett az elektrolitikus előállítási formával együtt 1976-ban képes volt üvegfémek előállítására. Paul Duwez is hazánkba látogatott, és 1980-ban pedig, ismételtén „mindenki” részvételével nemzetközi konferencia színhelye Budapest, harminchat magyar, közöttük öt NMR tárgyú előadással. Mit jelent a hosszú-távú rend hiánya az elektron-szerkezetben, és létezik-e valamilyen rövidtávú rend, és ha igen, miként jellemezhető; ezek voltak a fontos, és az NMR számára is kezelhető kezdeti kérdések. A dipólus-dipólus csatolás erős távolságfüggésén keresztül a rövidtávú rendről ²³, a Hahn-Carr-Purcell típusú ²⁴ valamint a kvadrupólus echók ²⁵ pedig a fémüvegek heterogén geometriai és elektron-szerkezetéről nyújtottak további, még ma sem teljesen kihasznált információt.

Fém-hidrogén rendszerek

Ma is meglepődnek a hallgatók, ha feltesszük azt a kérdést: miként fér el a megközelítően két és fél liter cseppfolyós hidrogén az egy literes vanádium tömbben. Nem hiszik, hogy a kérdés nem „red herring”, mert a folyadékok összenyomhatatlanságáról tanultak. Sok hasonlóan különös kérdés tehető fel, a fém-hidrid akkumulátoroktól az atommeghajtású tengeralattjárók cirkonium-hidrid reflektoráig, amíg a kutató eljut az alapkérdésekig: miként megy be, miként mozog és épül be a hidrogén atom a fém kristályrácsába. Továbbá, az előadás célját illetően, maradt-e még valami új a fentnevezett laboratórium NMR csoportja számára? Majdnem 150 éves a Pd-H rendszeren elvégzett első kísérlet! A matuzsálem korú kutatás ellenére, maradt elég; ami említésre méltó. Amit már említettünk: együtt mértük a szuszceptibilitást és a proton rezonancia Knight eltolódását Zr-Ni-H rendszerben ¹¹. A hidrogén mozgását (diffúzió) a heterogén rendszerben minden modell az aktivációs energiák eloszlása alapján értelmezi. Megmutattuk, hogy nem az aktivációs energiák, hanem a mozgás korrelációs idői azok, amelyek alapvetően változnak egy fémüveg-hidrogén rendszerben ²⁶. Most éppen ott tartunk, hogy megkérdőjeleztük azt a tankönyvi állítást, miszerint a hidrogén feltöltés menete a Pd-H ös-típus ötvözetben úgy zajlik, hogy először a rács-gáz alfa, majd a hidrid béta fázisa töltődik fel. Állításunk az, hogy mindkettő egyszerre töltődik, és a két fázis hidrogénjei nem cserélődnek, hanem százezer, illetve egymillió lépés erejéig az adott fázisban maradva végzik helyi diffúziós mozgásukat ²⁷. Tehát maradtak még megoldandó „első” kérdések.

Futottak és futnak még „kezdetek”

Nemesítési céllal szemenkénti olajtartalom meghatározást végeztünk napraforgó magokon, az első NMR mérést mi végeztük ²⁰⁵Tl magokon magas hőmérsékletű szupravezető oxidokban ²⁸. Induló témáink a nanocsövekben maradó ferromágneses katalizátor maradványok NMR jellemzőkre gyakorolt hatásának a kiderítése, és a saját NMR jellemzők megértése; továbbá, a lézerkristályként alkalmazott YAB:Er

(erbiummal adalékolt ittrium-alumínium borát) szimmetria és rácshiba tulajdonságainak a tanulmányozása ²⁹.

Élettudomány és NMR: múlt és jövő

Az élő-anyag fizikája, vagy ha úgy tetszik az élettudomány fizikai aspektusa hosszú évek, történetesen az 1970-es évek első fele óta érdeklődésünk homlokterében áll; és itt is csak az első lépésekről ejtünk szót. A csirkemájba traszplantálható hepatóma NMR spektroszkópiája volt az első, ahol a vízmolekulákban lévő protonokat faggattuk a rosszindulatú daganatos betegség relaxációs idők megnyújtásában mutatkozó következményeiről. Majd a fizikus számára legegyszerűbbnek tűnő szövet, a szemlencse vizsgálatában az aggkori szürke-hályogot, valamint a normál lencsék életképességét ^{30,31} tanulmányoztuk, jelesül azt, hogy a hidrát burok protonjai mit tudnak a fenti kérdésekről mondani. Szerencsére több NMR jellemző (a spektrum, az intenzitás, a relaxációs idők) mérhető, így több kérdés tehető fel a természetükkel fogva heterogén rendszerekről. Röviden szólva, mert az idő eljárt, a makromolekulák elektrosztatikai/dinamikai tulajdonságait is feltáró hidratációs kérdések megismerése a célunk, különös tekintettel az extrém tulajdonságokat mutató fehérjék vizes oldataira.

Összefoglaló

A hazai NMR kutatások történelmének kezdeteit, majd a KFKI-ban és annak utódintézetében tett néhány tematikus első lépését vázoltam. A kezdő lépéseket, Faragó Péter vezetésével Gécs Mária és Mertz János tették meg. A gondolat – miszerint az eszközháttérrel illetően, itthon is eredményesen művelhető kutatás elinduljon- Bay Zoltántól származott. Az első hazai publikációk 1954-ben és 1955-ben, tehát nyolc illetve, kilenc évvel F.Bloch és E. M. Purcell és munkatársaik Nobel-díjas dolgozatai megjelenése után kerültek a világ szeme elé. A továbbiakban a MTA KFKI (ma részbeni jogutódként MTA SZFKI) NMR laboratóriumának első lépéseit ismertettem, majd a további tevékenységéből olyan példákat válogattam, amelyek

- a célkitűzésnek megfelelően kezdetet jelentettek (módszer és eszközfejlesztés, anyagcsalád, vagy fizikai jelenség szempontjából, és természetesen nemcsak a magyar ugaron). Példaként itt a híg ötvözetek, a fémüvegek, a fém-hidrogén rendszerek, valamint az élettudomány számára fontos anyagok említése történt.
- a leegyszerűsítő modellek alapján homogénnek tekintett, de valójában heterogén rendszerek vizsgálatára vonatkoznak,
- nem egyetlen fizikai/kémiai jellemző mérésén és annak értelmezésén, hanem a kutatás összetett mivoltát illetően több paraméter együttes vizsgálatán alapulnak,
- ma is folytatódnak újabb „szöveg-környezetben”..

Nem vállalkoztam arra, hogy a tudomány más területein tett első hazai NMR kutatási lépéseket is felsoroljam; ezt megtette Sohár Pál a Magyar Kémiai Folyóiratban ³². Annyit talán érdemes ismételní, hogy a molekulaszervezet vizsgálatra szánt első „nagyfelbontású” 60 MHz-es NMR berendezés 1964-ben került a MTA KKKI-ba, és ugyanitt helyezték

1973-ban üzembe az első 100 MHz frekvenciájú Varian FT berendezést, ugyan akkor, mint a Központi Fizikai Kutató Intézetben a széles frekvencia tartományban működő Bruker pulzus spektrométert. A KFKI-s csoport a tudományterület szélesítése érdekében végzett tevékenységéhez tartozik még két előadássorozat: 1961-62 fordulóján a Magyar Kémikus Egyesület rendezvényeként, Szőke József szervezésében „Nagyfelbontású NMR spektroszkópia kémiai alkalmazásai”, majd 1975 tavaszán Mátrafüreden „NMR módszer és biokémiai alkalmazásai” címmel. Történelmet írni királyokról szoktak, a mi történelmünk ettől eltér, de a tudományművelők közül legalább az irodalomjegyzékben igyekeztem felsorolni azokat, akik tevőlegesen alakították a kezdeteket.

Irodalom

1. Faragó, P.S.; Gécs, M.; Mertz, J. *Acta Phys. Hung.* **1954**, *3*, 329.
2. Faragó, P.S. *Suppl. Nuovo Cimento* **1955**, *1*, 249.
3. Faragó, P.S.; Gécs, M.; Mertz, J. *Il Nuovo Cimento* **1955**, *X 2*, 1110.
4. Overhauser, A.W. *Phys. Rev.* **1953**, *92*, 411.
5. Beljers, H.G.; van der Kint, L.; Wieringen, J.S. *Phys. Rev.* **1954**, *95*, 1683.
6. Tompa K. *KFKI Közlemények* **1959**, *7*, 115.
7. Tompa K.; Tóth F. *Magyar Fizikai Folyóirat* 1963, *11*, 177.
8. Tompa, K. *Phys. Stat. Sol.* **1966**, *18*, 391.
9. Andrew, E.R. *Proc. of XVII Congress AMPERE*, Turku, **1972**, 18.
10. Tompa, K.; Tóth, F.; Grüner, G. *Phys. Stat. Sol.* **1967**, *22*, K11.
11. Tompa, K.; Bánki, P.; Lasanda, G.; Varga, L.K. *J. Alloys Comp.* **1995**, *231*, 330.
12. Tóth, F.; Tompa, K.; Grüner, G. *J. Phys.E.: Sci. Instr.* **1972**, *5*, 42.
13. Grüner, G.; Tompa, K. *J. Phys.F.: Metal Phys.* **1972**, *3*, 189.
14. Dézsi, I.; Molnár, B.; Tarnóczy, T.; Tompa, K. *J. Inorg. Nucl. Chem.* **1967**, *29*, 2486.
15. Bokor, M.; Marek, T.; Tompa, K. *J. Magn. Res. A* **1996**, *122*, 164.
16. Bokor, M.; Marek, T.; Tompa, K.; Gütllich, P.; Vértess, A. *Eur. Phys. J. D* **1999**, *7*, 567.
17. Marek, T.; Bokor, M.; Lasanda, Gy.; Tompa, K.; Párkányi, L.; Buschmann, J. *J. Phys. Chem. Solids* **2000**, *61*, 621.
18. Tompa, K.; Tóth, F.; Jánossy, A. *Phys. Lett.* **1967**, *25*, A 587.
19. Tompa, K.; Tóth, F.; Grüner, G. *Solid State Comm.* **1969**, *7*, 51.
20. Brettell, J. M.; Heeger, A. J. *Phys. Rev.* **1967**, *153*, 319.
21. Tompa, K. *J. Phys. Chem. Solids* **1972**, *33*, 163.
22. Tompa, K.; Bánki, P.; Bokor, M.; Lasanda, Gy.; Varga, L.K.; Champion, Y.; Takács, L. *J. Applied Magn. Res.*, közlésre elfogadva
23. Bakonyi, I.; Takács, L.; Tompa, K. *Phys. Stat. Sol. (b)* **1981**, *103*, 489.
24. Tompa, K.; Bakonyi, I.; Bánki, P. *Proc. of Conf. On Met. Glasses: Science and Technology, Budapest* **1980**, 125.
25. Tompa, K.; Bakonyi, I.; Bánki, P.; Takács, L. *Proc. of Conf. On Met. Glasses: Science and Technology, Budapest* **1980**, 341.
26. Tompa, K.; Bánki, P.; Hargiti, C.; Lasanda, Gy.; Lovas, A.; Varga, L.K. *J. of Alloys Comp.* **1997**, *253-254*, 428.
27. Tompa, K.; Bánki, P.; Bokor, M. *Defect and Diffusion Forum* **2003**, *224-225*, 93.
28. Mihály, L.; Tompa, K.; Bakonyi, I.; Bánki, P.; Zsoldos, É.; Pekker, S.; Oszlányi, G.; Hutiray, Gy. *Int. J. of Modern Phys. B.* **1988**, *1*, 1227.
29. Bokor, M.; Beregi, E.; Bánki, P.; Watterich, A.; Tompa, K. *publ. alatt*
30. Tompa, K.; Rácz, P. *Proc. of XIXth Congress AMPERE, Heidelberg* **1976**, 341, *KFKI Preprint* 77-1.
31. Rácz, P.; Tompa, K.; Pócsik, I. *Exp. Eye Res.* **1975**, *29*, 601.
32. Sohár, P. *Magyar Kémiai Folyóirat* **1994**, *100*, 469.

MRI: forradalmi változás az orvosi képi diagnosztikában

Martos János^a CSc, Zaránd Pál^b DSc

^aOrszágos Idegsebészeti Tudományos Intézet

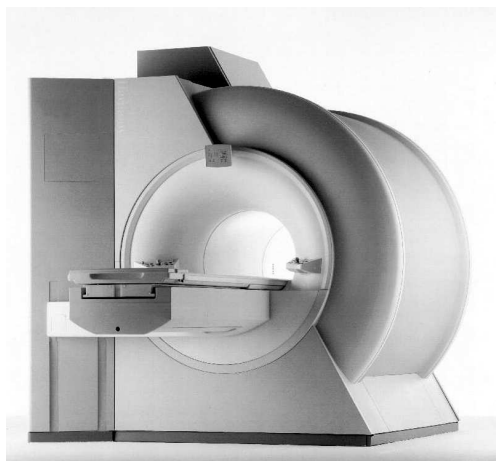
^bFővárosi Onkoradiológiai Központ, Uzsoki Utcai Kórház

Az MR (mágneses rezonancia) képalkotás az 1970-es évek nagy jelentőségű felfedezése volt. A klinikai gyakorlatban az 1980-as években terjedt el. Működésének alapja az 1946-ban leírt ún. mágneses magrezonancia (nuclear magnetic resonance, NMR) fenomen.

Az MR alapvetően tomográfias eljárás, tehát segítségével a CT-hez hasonlóan szeletkép-sorozatok készíthetők, de az egyik lényeges különbség éppen az, hogy nemcsak transzverzálisan (mint a CT-vel), hanem bármilyen síkban. Ráadásul az MR többféle olyan, egymástól teljesen különböző kontraszttartalmú felvétel készítésére alkalmas, amelyek a szövetek legkülönbözőbb biokémiai, biofizikai tulajdonságait tükrözik. Az orvosi képalkotó diagnosztikában a felhasználási lehetősége már ma is óriási, de fejlesztése továbbra is intenzíven folyik, szinte naponta születnek új mérési módszerek, melyek folyamatosan kerülnek klinikai alkalmazásra, egyre nagyobb területet kanyarítva le a többi képalkotó modalitástól.

Az MR berendezés

Az MR készülék fő része a mágnes, ami úgy van kialakítva, hogy a beteg a mágneses tér közepén fekvébe helyezkedhessen el. Technikailag kétféle típus létezik, az alagút rendszerű és az ún. nyitott mágnes (1. ábra). Az alagút tulajdonképpen egy tekercs, ennek a közepe szolgál a páciens számára, ami meglehetősen szűk, klausztrofóbiás beteg számára nehezen elviselhető. A tekercs szupravezető anyagból készül, amit héliumfürdő tart az abszolút nulla fok közelében.



1. Ábra. Alagút rendszerű 1.5 Tesla MR berendezés.

A nyitott mágnes kissé kényelmesebb az alagúthoz képest, ami a klausztrofóbiás, vagy rossz állapotú betegek és a gyermekek vizsgálata szempontjából előnyt jelent. Az alagút rendszerű, szupravezető mágnes térereje általában nagyobb,

1.0, 1.5, 3 Tesla térerejű készülékek vannak forgalomban. A nyitott mágnes térereje ennél jóval kisebb (0.1-0.3 Tesla), bár újabban készítenek közel 1.0 Tesla térerejű nyitott mágneseket is szupravezető technikával.

A térerő az MR berendezés egyik legfontosabb jellemzője, mivel erősebb mágneses térben a nyerhető jel lényegesen nagyobb, így jobb minőségű MR képeket kaphatunk, és a mérés is rövidebb ideig tart.

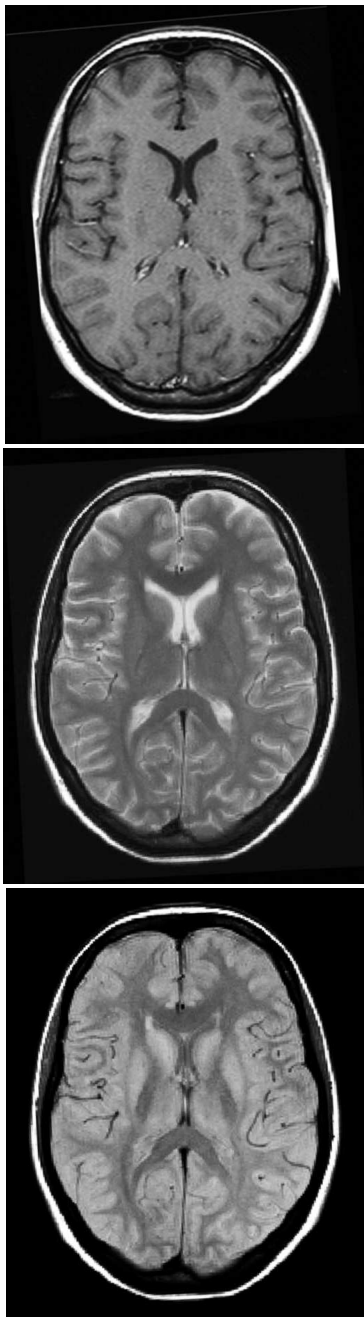
A gradiens tér szerepe

Ahhoz, hogy az MR vizsgálat képet formáljon, a detektált NMR jelet a képpont méretének megfelelő pontossággal lokalizálni kell. A lokalizációt a gradiens terek segítségével végezzük. A gradiens tereket megfelelő kialakítású elektromágnesek hozzák létre, meghozzá a tér három irányában. A gradiens tér minősége az MR készülék másik legfontosabb mutatója.

A gradiens tekercsre adott nagy áramerősségű impulzusok miatt az MR berendezés mérés közben igen hangosan zakatol. A gradiens impulzusoknak a jel-lokalizáción kívül több más funkciója is lehet, pl.: a protonok reszinkronizációja (gradiens-echo), mozgási artefaktumok csökkentése (GMR), diffúziósúlyozás, stb.

Az MR képek kontrasztja

Az MR alatt ma a proton (hidrogén-atommag) NMR képalkotást értjük. Az élő szervezetben a hidrogén – elsősorban a víztartalom miatt – nagy koncentrációban van jelen, de a zsírok, fehérjék és szénhidrátok hidrogéntartalma is jelentős. Az MR kép kontrasztját a protonok három alapvető tulajdonsága befolyásolja: a protonok sűrűsége, a T1 és T2 relaxációs idő. Az echo generálását különféle impulzusszekvenciák végzik, melyek a három paramétert különféle mértékben súlyozzák, így T1-súlyozott, T2-súlyozott és protondenzitású képek készíthetők (2.a., b., c. ábra). Az MR képek kontrasztját sok egyéb paraméter is befolyásolja, elsősorban a szövetek mágneses inhomogenitása, a hőmérséklet, különféle mozgások, mint például a szöveti diffúzió, a véráramlás, stb. A különböző szekvenciák gyorsaságban és néhány speciális tulajdonságban térnek el egymástól, melyek segítségével a fenti paraméterek erőteljesebben, vagy gyengébben érvényesülnek a képalkotásban. A szekvenciákat általában e speciális tulajdonságok alapján szokás elnevezni: pl. szuszeptibilitás MR képalkotás, MR-angiográfia, MR spektroszkópiás képalkotás, perfúziós MR, diffúziós MR, funkcionális MR, kinematikus MR, stb.



2. Ábra. T1-súlyozott (a), T2-súlyozott (b) és protondenzitású (c) szeletkép a nagyagy területéről.

Egy MR vizsgálat során általában több síkban készítünk felvételeket a térbeli kiterjedés pontos meghatározására, ugyanakkor a felvételek többféle szekvenciával, tehát más és más kontraszt tartalommal is készülnek (3. ábra).

A különféle kontraszt tartalmú képek segítségével nyert információk az agyi felvételeken jól követhetők: a T1-súlyozású felvételeken a liquor fekete, a zsír fehér, a szürke és fehérállomány jól elkülönül, a szürkeállomány sötétebb, mint a fehérállomány. A T1-súlyozott felvételek általában részletdúsak, ezért kiválóan alkalmasak az anatómiai viszonyok megítélésére. A T2-súlyozott felvételeken a víz fényesen ábrázolódik, ezért a liquor fehér, a léziók nagy része

a megnövekedett víztartalom miatt jól differenciálható. Az agy esetében a T2-súlyozású felvételeken a szürkeállomány világosabb a fehérállománynál. A protondenzitású felvételeken a szabad víz és az ödémákra jellemző kötött víz elkülönül, a szabad víz sötétebb, ezért a folyadéktartalmú részletek (pl. ciszternák) elkülöníthetők a szolid lézióktól, mely utóbbiak élénk, világos színűek ¹.



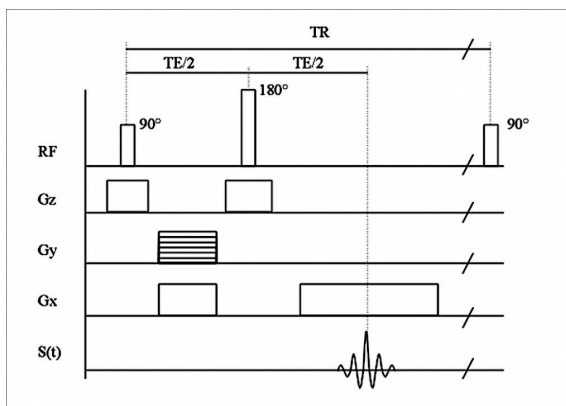
3. Ábra. Thoracalis-lumbalis gerinc T2-súlyozott sagittalis felvétele.

Az MR képeken a világosabb struktúrákat hyperintensnek (jelgazdagnak), a sötétebbeket hypointensnek (jelszegénynek) írjuk le, isointens a terület, ha világossága nem tér el a környezetétől.

Szekvenciák

A már hagyományosnak számító spin-echó technikával jó minőségű és jó kontrasztú képeket nyerünk, de sajnos a vizsgálat időtartama néhány percig is eltart. A gyors spin-echó technikával ugyan a vizsgálatot 2-8-szorosára lehet gyorsítani, de a gyorsaság a képminőség rovására megy. Az ún. gradiens-echó technikákkal ennél gyorsabban, általában egy percen belül kapunk képeket, az echó planár technika (EPI) mérési ideje pedig jóval egy másodpercen belül marad.

A spin-echó (SE) szekvencia egy ún. 90 fokos, gerjesztő rádiófrekvenciás impulzussal kezdődik, majd a protonok rezinkronizációját egy 180 fokos rádiófrekvenciás impulzus végzi (4. ábra). A jel a gerjesztés után, az ún. echó idő (TE) elteltével jelenik meg ². Jellegzetessége az igen jó képminőség. A SE felvételeken az erek, főleg az artériák, az áramlás hatására sötétlen ábrázolódnak. Az ún. áramlási jelkiesés hiánya biztos jele a trombózisnak, vagy egyéb okból bekövetkezett érelzáródásnak.



4. Ábra. A spin-echó impulzus-szekvencia kottája. A 90 és 180 fokos RF impulzusnak és a három gradiens impulzusainak pontosan időzítve kell lennie.

A gradiens-echó (GE) szekvencia abban különbözik a spin-echótól, hogy a reszinkronizációt nem 180 fokos rádiófrekvenciás impulzus, hanem bipoláris gradiens impulzus végzi. A GE szekvencia általában gyorsabb, mint a SE, jellegzetessége, hogy az erek a mozgó vér miatt fehéren ábrázolódnak, és a képek kontrasztját a szuszceptibilitási különbségek erősen befolyásolják. Ez utóbbit kihasználva az ún. T2*-súlyozott (T2 csillag) szekvenciával a kisebb vérzések már akut szakban is jól kimutathatók³. Ugyanezen ok miatt a GE szekvencia igen közkedvelt, például az ízületek vizsgálatában. Az ízületi szalagok és a rostos porc inhomogén szerkezete miatt jelszegény, míg az üvegporc homogenitása miatt jelgazdag. A rostos szerkezet sérülése jelfokozódást eredményez, az üvegporc homogenitásában bekövetkező legkisebb változás pedig jól látható jelcsökkenést okoz.

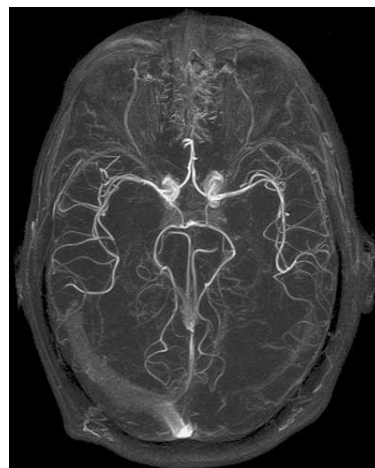
Az MR az ún. 3DFT technikával képes nagyon vékony, akár 0.5, sőt 0.1 mm vastag szeletkép sorozat készítésére, ami lehetőséget ad arra, hogy bizonyos struktúráknak (pl.: agyfelszín, érrendszer) - a 3 dimenziós rekonstrukciós módszerekkel - a térbeliségét is ábrázoljuk².

A 3DFT technikával, vékony, erősen T2-súlyozott felvételesorozattal a folyadékterek MR vizsgálata valószínűsíthető meg (Pl.: MR-myelográfia, MR-cisztográfia, MR-cholangio-pancreatográfia (MRCP), MR-sialogram, stb.).

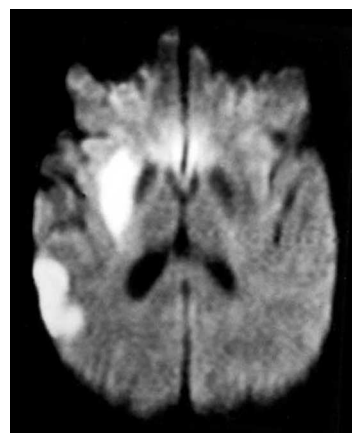
Az MR-angiográfia lehetőséget nyújt az erek nem invazív, illetve minimálisan invazív vizsgálatára. Az MR-angiográfia a DSA felvételekhez hasonló szummációs jellegű képeket készít, amivel az érszerkezet jól megítélhető (5. ábra). Az MR-angiográfia az MR ún. áramlási jelenségeit használja fel a mozgó vér detektálására. A legegyszerűbb és leggyakrabban használt módszer az ún. TOF (time-of-flight) MR-angiográfia^{4,5}. Ha kifejezetten az áramlás kimutatása, vagy kvantifikálása a cél, akkor ún. fáziskontraszt (PC) MR-angiográfiát végzünk⁶. A perifériás illetve nagyerek vizsgálatára intravénás bolusban beadott kontrasztanyag segítségével, az ún. kontrasztos (contrast enhanced, CE) MR-angiográfiára is van lehetőség.

A diffúziós MR sok érdekes lehetőséget biztosít a szövetek biofizikai tulajdonságainak megítélésére, ami nagyon jól korrelál például a viabilitással⁷. Az ún. diffúzió-súlyozott

MR felvétel a hyperacut ischemiás stroke kimutatásának legérzékenyebb módszere⁸ (6. ábra). Ebben a szekvenciában az ún. diffúziós gradiens impulzusok miatt az extracelluláris víz diffúziós mozgásának megfelelően jelcsökkenés lép fel. A normál diffúzió cytotoxikus ödéma esetén a sejtduzzadás miatt jelentősen gátoltta válik, ami a jelcsökkenést enyhíti, így ez a terület relatíve magas jelintenzitású lesz.



5. Ábra. Az agy ereiről készült MR-angiográfia.



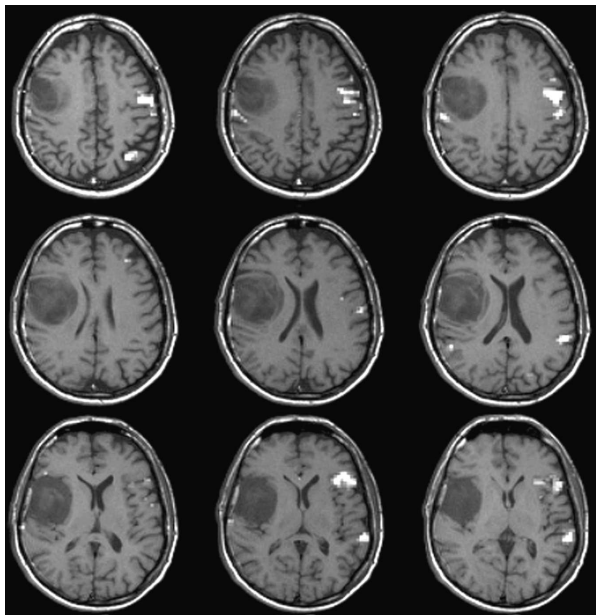
6. Ábra. A diffúzió-súlyozott felvételen jobb oldalon két akut ischemias terület látható.

A diffúzió-súlyozás mértékét a gradiens impulzusoktól függő ún. 'b' érték határozza meg. A 'b' szokásos értékei: 0, 500, 1000, 5000, de erre alkalmas berendezésnél 10-20 ezer is lehet. Az extrém nagy 'b' értékek esetében a diffúzió-súlyozott MR felvételek a szövetekben a különböző víz kompartmentek vizsgálatát teszi lehetővé⁹. Több 'b' értékkel készült felvételből a diffúziós koefficiens (ADC) voxelről-voxelre kiszámítható. Az így készült, kalkulált kép az ún. ADC map, melyen az egyes területek diffúziós képességének kvantitatív elemzése is lehetséges.

A perfúziós MR segítségével a parenchymás szervek szöveti vérátáramlása vizsgálható. A különféle perfúziós paraméterek (time to peak, mean transit time, regional cerebral blood flow) voxelről-voxelre történő kiszámításával készülő kalkulált képek nagyon jól ábrázolják a rosszul perfundált területeket, ami a nagy rizikójú régiót határolja körül, vagy ellenkezőleg, a hyperperfundált terület malignus elváltozásra utalhat.

A dinamikus MR lényege a kóros szövetek, tumorok kontrasztanyag-halmozásának időbeli vizsgálata. A dinamikus MR vizsgálat során a bolusban adott intravénás kontrasztanyag után 20-30 másodpercenként készítünk képeket. A felvételeken a különböző szövetek eltérő kontrasztanyag-halmozási dinamikája lesz megfigyelhető, illetve mérhető, és grafikusán ábrázolható.

Az ízületek, a gerinc és a szív mozgását követő, filmszerűen lejátszható felvételsorozat a kinematikus MR, melyen az ízületek inkongruenciája, az ízületi szalagok elégtelensége, vagy az esetleges gerinc instabilitás ítéltető meg^{10,11}.



7. Ábra. Funkcionális, beszédaktivációs MR felvétel. Jobb oldali temporalis tumor, bal oldali dominanciájú beszédközpont.

Az MR a test anatómiai szerkezetének pontos leírása mellett több funkcionális információt is képes szolgáltatni. Ilyenek a véráramlással, diffúzióval, kontrasztanyag halmozással, bizonyos anyagcsere-folyamatokkal kapcsolatos adatok. Az agy vizsgálatánál az MR lehetőséget biztosít arra is, hogy a működésével összefüggő neuronális aktivitást kimutassuk, és pontosan lokalizáljuk. Ezt a feladatot az ún. funkcionális MR (fMRI) látja el¹². A neuronális aktivitás az MR-rel közvetett módon, az agyi erek autoregulációjának követésével érhető el. Erre a feladatra korábban többféle technikai próbálkozás történt, de a legmegfelelőbbnek az ún. BOLD (blood oxygenation level-dependent) technika mutatkozott¹³. Ennek lényege az, hogy a neuronális aktivitás okozta értágulat az adott régióban lényegesen csökkenti a paramágneses tulajdonságú deoxihemoglobin szintet, ami a T2*-súlyozott felvételeken lokális jelszint emelkedést vált ki. A jelemelkedés nem jelentős, csupán 1-2%, de a többször ismételt nyugalmi és aktivizált mérések képeinek voxelről-voxelre történő statisztikai elemzése kirajzolja azt a területet, ahol az aktivitás szignifikáns jelváltozást okozott. (7. ábra).

Az NMR felfedezésével az anyagszerkezet, így a biológiai anyagok vizsgálatában is hatalmas jelentőségű spektroszkópiás módszer született. Az MR berendezés segítségével ugyancsak elvégezhetők ezek a spektroszkópiás elemzések, ráadásul nem szükséges az anyag kivétele

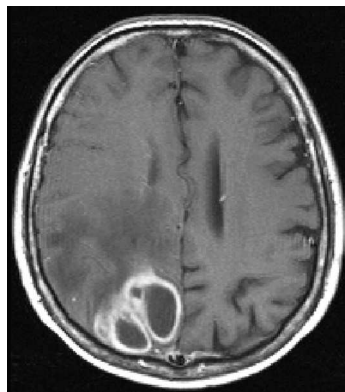
(biopszia), elegendő az MR képen az érdekelt térfogatot megjelölni. Általában a legkisebb vizsgálható térfogat 1 cm³ szokott lenni. A spektroszkópiás vizsgálattal a szövetekre jellemző aminosavak, vagy egyéb szerves molekulák kimutathatók, ezek relatív mennyisége is meghatározható. Ezeknek az anyagoknak a változása, vagy kóros anyagok megjelenése a spektrogramon különféle betegségekre jellemző lehet, így az MR spektroszkópia a minőségi diagnózis felállítását segítheti elő^{14,15}.

A mai MR berendezések a spektroszkópiás elemzést egy meghatározott területen pontról-pontra el tudják végezni, és az eredményt szinkódolt szeletkép formájában képesek ábrázolni (spectroscopic imaging)¹⁶.

Kontrasztanyagok

Az MR felvételek jeltartalma különféle kontrasztanyag használatával befolyásolható. A kontrasztanyag feladata, hogy a kóros folyamatok kimutathatóságát növelje. Ehhez az szükséges, hogy megváltoztassa valamelyik, a képalkotásban felhasznált MR paramétert, ezért a kontrasztanyagok általában mágneses tulajdonságúak. Természetesen lényeges szempont, hogy a kontrasztanyagot valamely szövet vagy folyamat halmozza, továbbá, hogy a kontrasztanyagnak alacsony legyen a toxicitása, legyen stabil vegyület, és teljes ürüljön ki a szervezetből.

A kontrasztanyagot intravénásan vagy szájon át alkalmazhatjuk. Az MR paraméterek közül a legegyszerűbb a protondenzitást növelni, erre a célra legalkalmasabb a víz, amit például a belek feltöltésére szoktak alkalmazni. A mágneses tulajdonság alapján a kontrasztanyag lehet paramágneses és ferromágneses.



8. Ábra. Agytályog Gd-DTPA halmozású, T1-súlyozott felvétele

A ma forgalomban levő paramágneses kontrasztanyagok makromolekulákhoz kötött gadolinium (Gd) tartalmú kelátok (az első, kereskedelmi forgalomban kapható kontrasztanyag a Gd-DTPA)¹⁷. A leggyakrabban használt Gd tartalmú paramágneses kontrasztanyagot intravénásan alkalmazzuk. A kontrasztanyag a vérrel a szövetekhez jut, ahol a vaszkularizáció, az intersticiális folyadéktér nagysága, a központi idegrendszer esetén a vér-agy gát sérülése és esetleges aktív folyamatok befolyásolják a halmozódását. Az intravénásan alkalmazott paramágneses kontrasztanyag a halmozódás helyén jelentősen rövidíti a T1 relaxációs időt,

ezért kontrasztanyag adása után T1-súlyozott felvételeket készítünk, ahol a halmozás helyén a kép világosabb lesz, megnövelve az adott szövet kontrasztját a környezetéhez képest (8. ábra).

A super-paramágneses kontrasztanyag, ultra-kis méretű vasoxid szemcsék (nanopartikulák) vizes keveréke, ami általában phagocytosis útján halmozódik. A kontrasztanyag partikuláris szerkezete miatt nagy mágneses inhomogenitást okoz a halmozás helyén, ami elsősorban a T2 súlyozott felvételeken nagy jelvesztést okoz. A kontrasztanyag nagyon alkalmas a nyirokcsomók, a máj és a lép vizsgálatára

¹⁸.

Biztonsági szempontok

Az MR berendezés a nagy mágnes miatt nagyon balesetveszélyes. A mágnes ferromágneses tárgyakat magához ránt, ami lövedék sebességre gyorsulhat, így életveszélyt jelenthet a beteg és a személyzet számára, valamint jelentős anyagi kárt okozhat a berendezésben. Emiatt a biztonsági rendszabályok betartása különösen fontos ¹⁹.

Mai tudásunk szerint a vizsgálat során alkalmazott nagy sztatikus mágneses térnek (0.2 - 2 Tesla) és a rádiófrekvenciás sugárzásnak nincs káros biológiai hatása ²⁰. Az MR vizsgálat kontraindikációi részben a nagy mágnessel, részben a szűk és meglehetősen zárt vizsgálóterrel függenek össze: abszolút kontraindikációt jelent a szívritmus-szabályozó és az artériás clip, mivel ezek a mágneses térben életveszélyt jelentenek. Fémprotézisek, fém idegentestek az adott régióban értékelhetetlenné tehetik a felvételeket, ez relatív kontraindikációt jelent. A vizsgálatot megghiúsíthatja a beteg klausztrofóbiája, valamint nyugtalansága. A nem kooperáló, nyugtalan betegek, vagy a csecsemők és kisgyermekek altatása a szűk tér miatt nem könnyű feladat, de MR-kompatibilis monitorozás segítségével a súlyos állapotú betegek is biztonságosan vizsgálhatók.

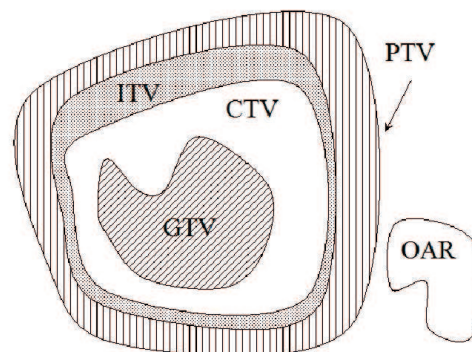
Az MRI alkalmazása a sugárterápiában

A célterület

Az MRI orvosi alkalmazásának speciális esete a sugárterápia. A sugárterápiában használt leképezési eljárások célja, hogy olyan torzításmentes - ma már 3D kép - álljon rendelkezésünkre, amelyen meg tudunk határozni néhány fontosabb térfogatot (9. ábra), amit a megfelelő sugárzással kezelni fogunk ^{21,22}. A besugárzás-tervezéshez természetesen ismerni kell az elektronsűrűséget is.

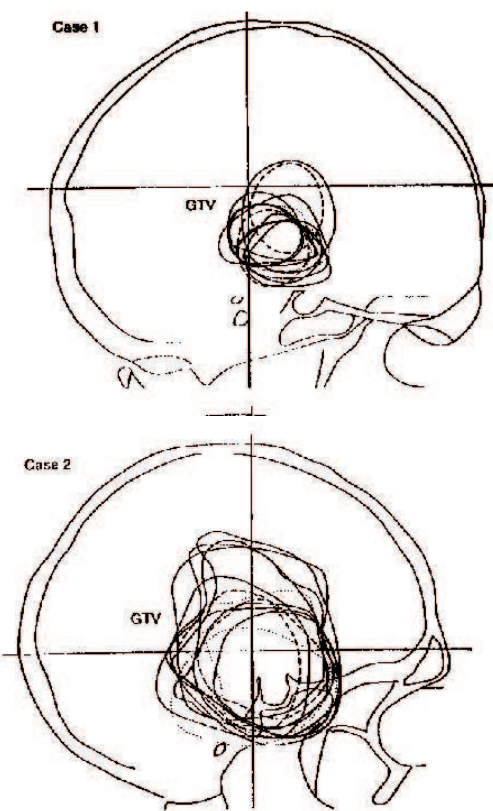
A Gross Tumor Volume (GTV) lényegében a rosszindulatú elváltozásnak észlelhető részeit tartalmazza (beleértve a metasztatikus limfadenopátiákat és a metasztázisokat is). A daganatsejtek sűrűsége általában ezekben a térfogatokban a legmagasabb, eléri a 10^{10} sejt/cm³ értéket. A GTV nagymértékben függ az alkalmazott vizsgálati eljárástól és leképezési technikától, de szubjektív elemeket is tartalmaz. A Clinical Target Volume (CTV), magában foglalja a GTV-t és/vagy olyan szubklinikus rosszindulatú elváltozást,

amit el kell pusztítani. Ennek megfelelően a CTV-ben a daganatsejtek sűrűsége 10^8 sejt/cm³ érték alatt van. Mindkettő klinikai-anatómiai fogalom. Ha nem tudjuk az egész GTV-t a kívánt dózissal kezelni, akkor nem *kuratív*, hanem csak *palliatív* kezelést végzünk.



9. Ábra. A célterület fogalma a sugárterápiában.

A CTV-hez még hozzáadunk egy biztonsági zónát (ezzel vesszük figyelembe a fiziológiás elmozdulásokat, térfogat, hely és alakváltozásokat) és az egészet Internal Target Volume-nak (ITV) nevezzük. A Planning Target Volume (PTV) az ITV-nél nagyobb, mert a beállítási és dozimetriai pontatlanságokat is magában foglalja. OAR (Organs at Risk) a védendő területet jelöli.



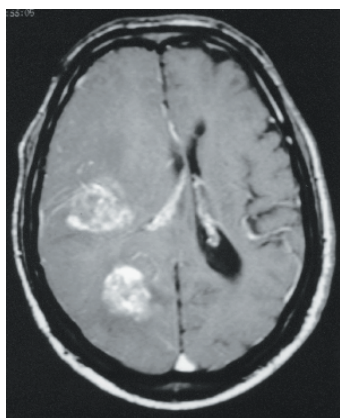
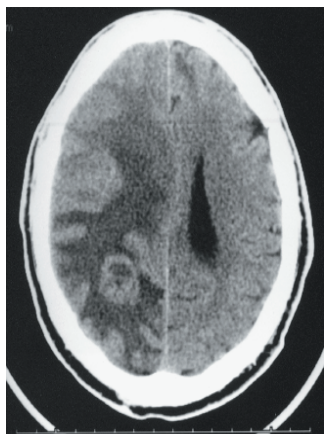
10. Ábra. A célterület kijelölése röntgen felvétel alapján

A céltérfogat helyes megadásának problémáját jól mutatja a 10. ábra. A sematikus ábra két agydaganatos beteg oldalirányú felvétele alapján készült. Ezekkel demonstrálta

Wambersie az ICRU elnöke a modern leképezési eljárások nélkül végzett tumor-meghatározás (GTV) szubjektív voltát^{23,24}. A folytonos vonalak 8 sugárterapeuta, a szaggatott és pontozott vonalakat pedig 2-2 radiológus, ill. idegsebész véleménye.

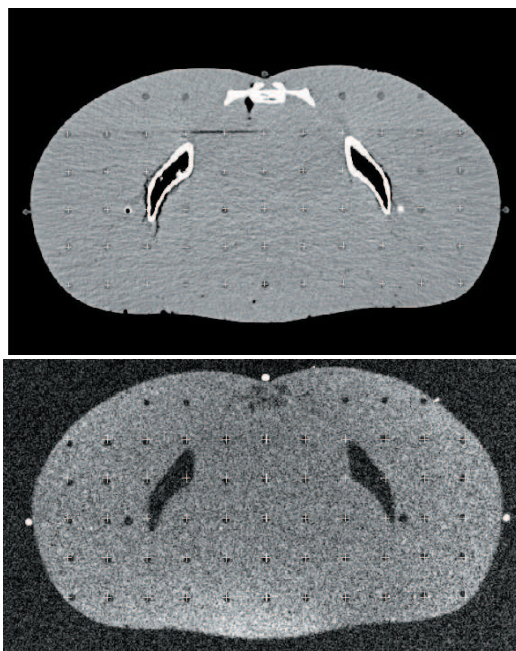
1. Táblázat. A sugárterápiában használt leképező eljárások

Leképező eljárás	Ár	Érzékenység	Specifitás
Film felvétel	alacsony	változó	magas
CT			
agy	közepes	nagy	közepes
tüdő	közepes	nagy	közepes
has	közepes	nagy	közepes
MR	magas	nagy	magas
Hasi UH	közepes	nagy	közepes
Nucl. Med.			
csont	közepes	nagy	alacsony
agy	közepes	közepes	alacsony
máj	közepes	közepes	alacsony
Gyomor-bél + kontraszt	közepes	nagy	nagy
Angiográfia	magas	nagy	közepes
Limfangiográfia	magas	nagy	közepes



11. Ábra. Ugyanannak a betegnek a koponya keresztmetszete CT-vel (felül) és MRI-vel (alul).

A 11. ábra jól mutatja az MRI jelentőségét. A CT metszeten csak egy szoliter metasztázis, valamint ödéma és kamraelzáródás látható. A gadolíniummal végzett MRI azonban további metasztázisokat mutat ki. Nem mutatjuk azt az ábrát, amelyen ebben a betegben – más felvételi paraméterek mellett még egy harmadik metasztázis is kimutathatóvá válik²⁵.



12.Ábra. Alderson-Rando fantom leképezése (CT, felül) és torzulása (MRI, alul).

A 12. ábra az MRI legfontosabb hátrányait jelzi. Az ábrán Alderson Rando fantom szagittális metszete látható³¹. Ez a fantom megfelelően preparált emberi csontokat tartalmaz, és ezt öntik ki a szövet-ekvivalens masszával. Ezen a képen is jól látható az izocentrumtól távolodva a torzítás növekedése. A doziméterek elhelyezésére szolgáló furatokat 3 cm-es mátrixban helyezték el. Az MRI-n a csont nem ad jelet. A medence fantom koronális metszetén a z irányú torzítás párnásodásként jelentkezik.

Az MR képek torzítása kis térfogat esetében ($15 \times 15 \times 20$ cm³, pl. koponya, fej-nyak, pl. 22, 29) általában nem haladja meg a 2-3 mm-t. A torzítás mértéke azonban a mágneses izocentrumtól távolodva egyre nőni fog, és kismedence esetében akár a 10-15 millimétert is elérheti²⁶.

Ma már számos ún. 3D besugárzás-tervező rendszer kapható. Régebben ezeket a programokat sokszor magunk fejlesztettük. A programok általános jellemzője, hogy csak axiális CT keresztmetszeteket fogadnak el (ezekből készítik az ún. DRR, digitally reconstructed radiograph) képeket. A CT képeken az azonos szövetek jó közelítéssel azonos jelet adnak, így megfelelő (Hounsfield) egységekben adhatjuk meg ezeket. A CT képekből kalibrációs görbe segítségével megkaphatjuk az egyes pixelekhez tartozó elektronsűrűségeket. Ezek a besugárzás-tervezéshez nélkülözhetetlenek. A külső sugárterápiában használt legfontosabb sugárkvalitások 1 – 10 MeV fotonenergia között vannak.

Az MR esetében számos lehetőséggel rendelkezünk. A jelintenzitás elsősorban a protonszűrűségtől és a T1 és T2 relaxációs időktől függ. Az orvos a vizsgálatokhoz igen sokféle szekvenciát alkalmaz. Vagyis nem áll olyan standard módszer rendelkezésünkre, amivel az egyes szervekhez a jelintenzitás alapján a CT-hez hasonlóan sűrűséget tudnánk rendelni.

2. Táblázat. A CT és MRI a besugárzás-tervezésben

	CT	MRI
Képkötés síkja	axiális	axiális, szagittális, koronális
Lágyszövet kontraszt	rossz	jó
Kompakt csontok	jól láthatók	nem láthatók
Geometria pontosság	torzításmentes	térfogat függő torzítások
Sűrűség információk	jelintenzitás arányos az elektronsűrűséggel	jelintenzitás nem függ az elektronsűrűségtől

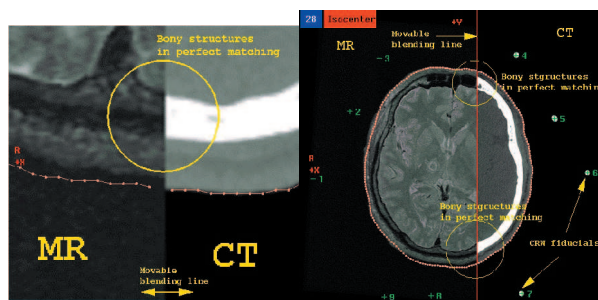
A két leképező eljárás legfontosabb különbségeit hasonlítja össze a 2. táblázat. Mindkét eljárásnál gondot okoz a beteg rögzítése, mert az csak korlátozottan kivitelezhető. Az axiális térbeli felbontás mindkét eljárásnál < 1 mm. A vizsgálati idő a CT esetében rövid, az MRI-nél viszont hosszú. A vizsgálati idő növekedésével a beteg és a betegben az egyes szervek elmozdulásának valószínűsége nő. A táblázat nem tartalmazza a vizsgálandó objektum összetételével kapcsolatos torzulást (kémiai eltolódás). A táblázat – a vizsgálat árától függetlenül is – jelzi, hogy a besugárzás-tervezéshez közvetlenül továbbra is a CT-t fogjuk használni, de számos esetben az MRI nélkülözhetetlen a célterület pontos kijelölésében.

Első lépésként a CT kép pontjait többé-kevésbé kölcsönösen és egyértelműen meg kell feleltetnünk az MRI képeknek. Ezt a tevékenységet szokás képregisztrációnak nevezni. Ennek legegyszerűbb formája a párhuzamos megtekintésen alapuló összehasonlítás, amikor a két képsorozatot egymás mellett vizsgáljuk (filmen, vagy képernyőn), és megfigyelés alapján viszünk át információkat az egyikről a másikra. Ez eléggé szubjektív és nagyon pontatlan módszer, mert sokszor még a CT és MRI sem síkok feleltethetők meg kölcsönösen egymásnak.

MRI adatátviteli módszerek a CT képre: a két kép egyidejű megtekintése, majd

- bizonyos képletek, ismertető jelek alapján (landmark), melyeket mindkét képen 2D-ben meg kell adni, vagy
- anatómiai kontúrok

alapján illesztjük a két képet. Lehet még a képek váltakozó megjelenítésével, interaktív módon is illeszteni a képeket. Mindkét módszer időt rabl.



13. Ábra. CT és MR képek kézi illesztése.

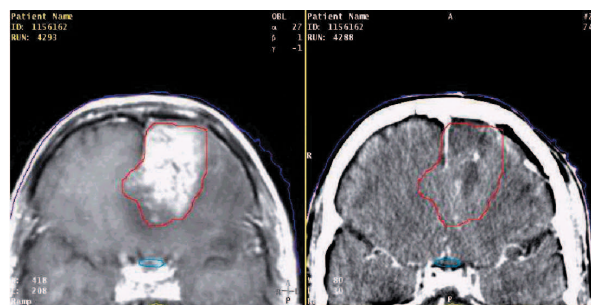
Külső jelöléseket is alkalmazhatunk, ha azok rendelkezésre állnak. Erre a célra jól használható az E vitamin kapszula. Kontrollvizsgálatoknál ez gyakorlatilag nem lehetséges.

Gondot jelent az is, hogy nagyobb méretek (pl. medence) esetében az MR éppen a szélén torzít. Regisztrációnak szokták nevezni azt a tevékenységet, aminek eredményeképpen a kijelölt (ún. fiduciális) pontokat vagy szerv kontúrokat a két képen megfelelő transzformációkkal egymáshoz illesztjük. Legegyszerűbben kézi, interaktív módszerrel tudjuk az egyik adathalmazt síkbeli eltolásokkal és forgatásokkal fedésbe hozni a másikkal. Ebben a fiduciális pontok (pl. koponya-besugárzások esetében a rögzítő keret metszetei) nagy segítséget jelentenek (13. ábra) ²⁷.

Számítógépes programokkal természetesen sokkal pontosabb és gyorsabb megfeleltetés (regisztráció) érhető el. Ezek a programok általában azt feltételezik, hogy mindkét leképezéssel kapott mátrix szilárd testként viselkedik, és valamennyi pontra ugyanaz a transzformáció érvényes ^{26,28,29}.

$$\mathbf{r}_1 = \mathbf{A} \times \mathbf{r}_2 + \mathbf{b}$$

ahol \mathbf{r} a megfelelő pontok koordinátáit jelöli, \mathbf{A} a nyújtást és a forgatást magában foglaló mátrix, \mathbf{b} pedig az eltolás vektor. A néhány pont felhasználásával végzett számítógépes illesztés ma már a kereskedelembe kapható besugárzás-tervező programoknak is (általában) opcionális tartozéka. A számunkra rendelkezésre álló két tervező programban (CadPlanTM, Varian, illetve XiOTM, CMS) a CT képek kontúrozása, azaz a célterület és a szervek kijelölése történhet a besugárzás-tervező munkaállomáson is, de célszerű ezeket az elsősorban kontúrozási célt szolgáló számítógépeken (SomaVisionTM, Varian, ill. FocalTM, CMS) végezni. A képregisztrálás viszont csak ezeken az utóbbi gépeken lehetséges. A regisztrálás néhány pont felhasználásával történik. Térbeli illesztéshez minimálisan 4 pont szükséges. Ilyen regisztrálást mutat a 14. ábra ³⁰.



14. Ábra. MRI (bal oldal) alapján meghatározott CTV átvitele a CT képre (jobb oldal)

A kézi regisztrálás teljesen automatizált változata lényegében „sablon” alkalmazásával történik. Mindkét képből (ez esetünkben CT és MR) megfelelő görbéket kell extrahálni. A görbék keresése megfelelő ablaktechnikával végezhető, a számos, csak néhány pontot tartalmazó kis képletet kizárjuk ²⁸.

Az illesztendő képen a megfelelő vonalakat fel kell darabolni, majd ezeket a sablonhoz illesztjük. Lényeges, hogy ne legyen túl sok pont, mert ez nagyon megnöveli a számítási időt. Referenciának általánosságban a megfelelő pontosságú CT felvételeket tekintjük, és ehhez a felülethez illesztjük a program a szegmentált MR görbéket. Általában néhány ezer pontnál többet nem használnak, és az iteráció legfeljebb néhány száz lépésből áll.

Számítógépes eljárással olyan transzformációt keresnek, ami a két képet egymáshoz megfelelően illeszti. Általában itt is eltolásról, forgatásról és lépték változtatásról (scaling) van szó. Esetenként egy további transzformációval kis mértékben az Y és a Z tengely megnyúlását lehet még korrigálni.

Az illesztés jóságát kifejező függvényként vagy a jól ismert átlagos eltérést és/vagy a szórás térbeli változatát használják:

$$C(T) = \text{sqr} \{ \Sigma F^2 [Tr_i] / (N-1) \}$$

$$C(T) = \Sigma F [Tr_i] / (N-1)$$

Mindkét esetben i-re kell összegezni, és F(Tr) az illesztett pont transzformáltjának a sablontól való távolságára utal.

Az MRI megbízható és ideális arra, hogy a besugárzás-tervezés kiegészítője legyen. Az MRI feloldása jobb, mint a CT-é a központi idegrendszer, lágy szövetek és a fej-nyak tájék esetén. Mellkasi elváltozások esetében a tumor és hiláris nodusok kimutatására jobb, mint a CT, de hasznos a bél, a genitáliák, és a nőgyógyászati tumorok diagnosztikájában is. Vagyis az MRI-t nem tekinthetjük a besugárzás-tervezésre önmagában is megfelelő, a CT alapú tervezés alapvető jellegét veszélyeztető képalkotó eljárásnak, mert (i) az elektronsűrűsége nem ad adatokat, a (ii) kortikális csontokat nem ábrázolja, (iii) intrinsic geometriai hibák terhelik, és (iv) nem-nagyon van olyan besugárzás-tervező program, ami az MRI képeket megfelelően integrálja, és így azokat megfelelően kezelhetővé teszi.

Irodalom

- Atlas SW: MRI of the Brain and Spine. Lippincott Williams & Wilkins, **2003**.
- Stark, DD.; Bradley, WG. Jr. *Magnetic Resonance Imaging*. Mosby, **1999**.
- Linfante, I.; Llinas, RH.; Caplan, LR.; Warach, S. *Stroke*. **1999**; 30, 2263-7.
- Atlas SW: MR angiography in neurologic disease. *Radiology* **1994**; 193, 1.
- Atkinson, D.; Brant-Zaqadski, MN.; Gillan, GD. et al. *Radiology* **1994**; 190, 890.
- Dumoulin, CL.; Souza, SP.; Walker, MF.; Wagle, W. *Magn Reson Med* **1989**; 9, 139-149.
- Le Bihan, D.; Breton, E.; Lallemand, D. et al. *Radiology* **1986**; 161, 401-407.
- Kennedy, J.; Buchan, AM. *Stroke*. **2004**; 35, 360-2.
- Cohen, Y.; Assaf, Y. *NMR Biomed*. **2002**; 15, 516-42.
- Patel, VV.; Hall, K.; Ries, M.; Lotz, J. *J Orthop Res*. **2004**; 22, 283-92.
- Muhle, C.; Resnick, D.; Ahn, JM.; Sudmeyer, M.; Heller, M. *Spine*. **2001**; 26, E287-93.
- Jezzard, P.; Matthews, PM.; Smith, SM. *Functional MRI. An Introduction to Methods*. Oxford University Press, **2001**.
- Ogawa, S.; Menon, RS.; Tank, DW.; Kim, SG; Merkle, H.; Ellermann, JM.; Ugurbil, K. *Biophys J*. **1993**; 64, 803-12.
- Frahm, J.; Bruhn, H.; Gyngell, ML. *Magn Reson Med* **1989**; 9, 79.
- Salibi, N.; Brown, MA. *Clinical MR Spectroscopy: First Principles*. Wiley, **1997**.
- Fulham, MJ.; Bizzi, A.; Dietz, MJ.; Shih, HH.; Raman, R.; Sobering, GS.; Frank, JA.; Dwyer, AJ.; Alger, JR.; Di Chiro, G. *Radiology* **1992**; 185, 675-86.
- Weinmann, HJ.; Brasch, RC.; Press, WR.; Wesbey, GE. *AJR Am J Roentgenol*. **1984**; 142, 619-24.
- Kopp, AF.; Laniado, M.; Dammann, F.; Stern, W.; Gronewaller, E.; Balzer, T.; Schimpfky, C.; Claussen, CD. *Radiology*. **1997**, 204, 749-56.
- Chu, WK.; Sangster, W.; *Radiol Technol*. **1986**, 58, 139-41.
- Gangarosa, RE.; Minnis, JE.; Nobbe, J.; Praschan, D.; Genberg, RW. *Magn Reson Imaging*. **1987**, 5, 287-92.
- ICRU, International Commission on Radiation Units and Measurements: *Prescribing, recording and reporting photon beam therapy Report ICRU 50*. Bethesda, MD. **1993**. ICRU. pp. 72.
- ICRU, International Commission on Radiation Units and Measurements: *Dose and Volume Specification for Reporting Interstitial Therapy. Report ICRU 58*: Bethesda, MD. **1997**. ICRU. pp. 35.
- Wambersie, A. *Radiológiai Közlemények* **1999**, 34, 60-81.
- ICRU, International Commission on Radiation Units and Measurements: *Prescribing, Recording, and Reporting Photon Beam Therapy (Supplement to ICRU Report 50)*. ICRU Report 62. Bethesda, MD. **1999**. ICRU. pp. 53.
- Kagan, RA. Palliation of Brain and Spinal Cord Metastases. In: Perez CA, Brady LW (szerk.): *Principles and Practice of Radiation Oncology*. Third Ed. Lippincott-Raven.: New York. **1997**. 2187-2197.
- Fransson Annette, Andreo, P.; Pötter, R. *Strahlenther. Onkol*. **2001**, 177, 59.
- Fichtinger, G.; O'Malley, S.; Wu, T.; Harisiadis, L.; Wessels, BW. *Radiológiai Közlemények* **1998**, 34, 65.
- van Herk, M.; Kooy, HM. *Med. Phys*. **1994**, 21, 1163.
- Khoo, VS.; Dearnaley, DP.; Finnigan, DJ.; Paghani, A.; Tanner, SF. *Radiother. Oncol*. **1997**, 42, 1.
- Parker, W.; Patrocinio, H. Clinical Treatment Planning in External Radiotherapy. In Podgorsak EB (szerk.): *Review of Radiation Oncology Physics: A Handbook for Teachers and Students* International Atomic Energy Agency: Vienna. **2003**, 179-224.
- Major, T. *Proc. IX. Hungarian Medical Physics Conference*. Radó Nyomda: Eger, **2002**.